

Aus der Klinik für Anaesthesiologie
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. Bernhard Zwißler

Die flüchtigen organischen Verbindungen Aceton, Isopren,
Ammoniak, Ethanol und Acetaldehyd in der menschlichen
Ausatemluft

Eine massenspektrometrische Untersuchung im Rahmen einer
fünftägigen Isolation

Dissertation

Zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Marc Schünemann

aus München

2017

Mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Alexander Choukèr

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. Cyrill Hornuß

Betreuung durch den

promovierten Mitarbeiter: Dr. Michael Dolch

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 20. Juli 2017

Meiner Frau und meinen Töchtern für ihre unendliche Geduld

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Tabellenverzeichnis	III
Abbildungsverzeichnis	III
Abkürzungsverzeichnis	IV
1 Einleitung	1
1.1 Historie und Potential der Atemgasanalyse	1
1.2 Definition von volatilen organischen Verbindungen	4
1.3 Das Grundprinzip der Atemgasanalyse	5
1.4 Die untersuchten flüchtigen organischen Verbindungen	8
1.4.1 Aceton	8
1.4.2 Isopren	9
1.4.3 Ammoniak	10
1.4.4 Ethanol	10
1.4.5 Acetaldehyd	11
1.5 Fragestellung	12
2 Material und Methoden	13
2.1 Die Probanden	13
2.2 Die Forschungseinrichtung AMSAN	15
2.3 Durchführung der Studie	16
2.3.1 Tagesablauf	17
2.3.2 Die Gewinnung der Atemluftproben	18
2.3.3 Ionen-Molekül Reaktions Massenspektrometrie	19
2.4 Statistische Auswertung	22
3 Ergebnisse	23
3.1 Die Teilnehmer	23
3.1.1 Demographische Daten der Teilnehmer	23

3.1.2 Verlauf des Körpergewichts der Probanden über den Untersuchungszeitraum	24
3.2 Die Ernährung.....	25
3.3 Der CO ₂ - Gehalt der Atemproben	26
3.4 Die flüchtigen organischen Verbindungen in Raum- und Atemluft der Teilnehmer	27
3.4.1 Aceton	27
3.4.2 Isopren.....	29
3.4.3 Ammoniak.....	31
3.4.4 Ethanol	33
3.4.5 Acetaldehyd.....	35
4 Diskussion.....	37
4.1 Probanden, Ernährung und Umweltbedingungen	38
4.2 Die Atemproben der Vormittage im Vergleich zu den Atemproben der Nachmittage	40
4.3 Die untersuchten flüchtigen Verbindungen in der Alveolarluft.....	41
4.4 Die Korrektur der „Background“- Konzentration.....	45
4.5 Einschränkung dieser Untersuchung.....	47
4.6 Die Vergleichbarkeit mit anderen Studien	49
5 Zusammenfassung und Ausblick	50
Literaturverzeichnis	51
Eidesstattliche Erklärung	59
Danksagung	60

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Tagesablauf der Teilnehmer	17
Tabelle 2: Demographische Daten der Teilnehmer	23
Tabelle 3: Übersicht über die Ernährung der Teilnehmer	25

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Kapnogramm mod. nach [93].....	7
Abbildung 2: Räumlichkeiten der AMSAN- Forschungseinrichtung [130]	15
Abbildung 3: Aufbau des Massenspektrometers [134]	20
Abbildung 4: Aufbau des Quadrupol-Massenfilter [135]	21
Abbildung 5: Boxplot des Gewichtsverlaufes	24
Abbildung 6: Boxplot des Kohlendioxidgehaltes.....	26
Abbildung 7: Boxplot der Konzentration von Aceton in der Raumluft	27
Abbildung 8: Boxplot der Konzentrationen von Aceton in der Atemluft	28
Abbildung 9: Boxplot der Konzentration von Isopren in der Raumluft.....	29
Abbildung 10: Boxplot der Konzentration von Isopren in der Ausatemluft	30
Abbildung 11: Boxplot der Konzentration von Ammoniak in der Raumluft.....	31
Abbildung 12: Boxplot der Konzentration von Ammoniak in der Ausatemluft	32
Abbildung 13: Boxplot der Konzentration von Ethanol in der Raumluft	33
Abbildung 14: Boxplot der Konzentration von Ethanol in der Ausatemluft.....	34
Abbildung 15: Boxplot der Konzentration von Acetaldehyd in der Raumluft.....	35
Abbildung 16: Boxplot der Konzentration von Acetaldehyd in der Atemluft	36

Abkürzungsverzeichnis

AMSAN	Arbeitsmedizinische Simulationsanlage
ARDS	Acute respiratory distress syndrome (engl.) Akutes Atemnotsyndrom
BMI	Body-Mass-Index (engl.) Körpermassenindex
ca.	Circa
cm	Zentimeter
CO ₂	Kohlendioxid
COPD	Chronic obstructive pulmonary disease (engl.) Chronische obstruktive Lungenerkrankung
EKG	Elektrokardiogramm
g	Gramm
Gamma-GT	Gamma-Glutamyl-Transferase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
HIV	Human immunodeficiency virus (engl.)
HMG-CoA-Reduktase-Hemmer	Hydroxymethylglutaryl-Coenzym-A-Reduktase- Hemmer
IMR-MS	Ionen-Molekül Reaktions Massenspektrometer
Kcal	Kilokalorie
kg	Kilogramm
m	Meter
min	Minute
ml	Milliliter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
NO	Stickstoffmonoxid
ppbv	parts per billion by volume (engl.) Teile pro Milliarde Volumen
ppmv	parts per million by volume (engl.) Teile pro Million Volumen
VOC	Volatile organic compound (engl.) Flüchtige organische Verbindung
Vol%	Volumenprozent

1 Einleitung

1.1 Historie und Potential der Atemgasanalyse

Ärzte machten sich seit jeher zu Nutze, dass der Atem eines Menschen viele Informationen über dessen Gesundheitszustand enthalten kann, welche zur Diagnose von einigen Erkrankungen beitragen können. Viele Krankheiten gehen mit einem pathognomonischen Geruch einher, beispielsweise der Geruch des Coma diabeticum nach Aceton, der ammoniakartige Aspekt der Urämie oder auch der Patient im Leberversagen, welcher intensiv nach frischer Leber riecht [1].

Jener spezifische Foetor ex ore mancher Krankheit dient gelegentlich auch in der heutigen Zeit in vielen Situationen, wie beispielsweise in der Notfallmedizin, wenn keine apparative oder laborchemische Diagnostik unmittelbar verfügbar ist, dem Mediziner häufig als Leitsymptom zur Diagnosefindung [2]. So ist es naheliegend, durch eine detaillierte technische Analyse des exhalierten Atems Hinweise auf pathologische Vorgänge im menschlichen Körper zu finden.

Der erste Bericht über eine technisch-analytische Untersuchung der Ausatemluft stammt aus dem Jahre 1784, als Lavoisier über den Gehalt von Kohlendioxid in der Ausatemluft berichtete [3]. Gegen Ende des 19. Jahrhunderts untersuchte Anstie die Abatmung von Alkohol [4]. Arthur Cushny zeigte 1910 bereits grundlegende Zusammenhänge zwischen der pulmonalen Abgabe von beispielsweise Chloroform, Aceton oder Methylalkohol nach intravenöser Injektion sowie deren jeweiligen spezifischen chemischen Eigenschaften wie zum Beispiel deren Wasserlöslichkeit [5]. In den 20er Jahren des 20. Jahrhunderts erkannte Dodds erstmals Unterschiede im Anstieg der postprandialen Kohlendioxidexhalation zwischen Gesunden und einem gastrektomierten Patienten [6] und formulierte bereits einen entscheidenden Vorteil der Atemgasanalytik aus: „The analysis of the alveolar air does not cause the subject any discomfort“ [7].

Bereits in den späten 40er Jahren des 20. Jahrhunderts berichteten Hunter und Kollegen über ein Massenspektrometriesystem zur Analyse der Ausatemluft in Echtzeit [8]. Diesem folgten auch im deutschsprachigen Raum Veröffentlichungen über Einsatzmöglichkeiten dieser Technologie in der Lungenfunktionsdiagnostik [9, 10].

Wissenschaftler, die sich mit Atemgasanalytik befassten, wie Jansson [11], der Chemie- und Friedensnobelpreisträger Pauling [12], Conkle [13] oder Teranishi [14]

veröffentlichten dann ab den frühen 70er Jahren des letzten Jahrhunderts die ersten systematischen Untersuchungen über sogenannte flüchtige organische Verbindungen (volatile organic compounds – VOC), welche die Ausatemluft in nano- bis picomolaren Konzentrationen enthält. In diesem Zeitraum wurden auch die ersten Zusammenhänge zwischen bestimmten VOCs und Krankheiten erkannt. Zuvor berichteten bereits Tassopoulos [15] und Rooth [16] über exhalierendes Aceton im Rahmen des Diabetes mellitus. Chen wies 1970 Verbindungen aus der Gruppe der Mercaptane und Dimethylsulfid in der Atemluft leberkranker Personen nach [17] und Bond untersuchte die Exhalation von Methan im endtidalen Anteil der Ausatemluft unter Bildung eines alveolären Gradienten [18].

Die Gewinnung einer Atemprobe am spontanatmenden Patienten, wie beispielsweise bei der forensischen Atemalkoholanalyse, hat im Vergleich zu anderen Verfahren der Laborchemie viele Vorteile. Sie ist nichtinvasiv, setzt sowohl den Probanden als auch den Asservator keinem Risiko sowie irgendeiner Art von subjektiven Unbehagen aus. Die zu untersuchenden Substanzen liegen bereits in gasförmigen Zustand vor, so dass sich somit häufig viele notwendige präanalytische Schritte reduzieren [19, 20].

Jedoch stellt die Analyse der VOCs in der Ausatemluft sowohl einen hohen Anspruch an das Procedere der Probengewinnung als auch an die analytische Genauigkeit der verwendeten Geräte, da die zu untersuchenden flüchtigen Verbindungen oft nur in geringsten Konzentrationen in der Atemluft erscheinen [21, 22].

In praxi sind allerdings nur wenige Bereiche der Atemgasanalyse regelhaft im klinischen Alltag etabliert. Die Kapnographie bzw. –metrie findet breite Anwendung im anaesthesiologischen, intensivmedizinischen und zunehmend auch im präklinischen Bereich, wodurch unmittelbar bettseitig und nichtinvasiv eine Vielzahl von relevanten Informationen über den Zustand eines Patienten und den Erfolg therapeutischer Maßnahmen vermittelt wird [23, 24]. Der Atemalkoholtest ist nicht nur in der Forensik zur Bestimmung der Fahrtüchtigkeit, sondern auch im perioperativen Kontext beispielsweise zur Detektion eines übermäßigen Einschwemmens hypotoner Kochsalzlösung in den Körper im Rahmen der transurethralen Prostataresektion, ebenso wie die Quantifizierung der NO-Konzentration zur Diagnostik bei Asthma bronchiale ein fester Bestandteil des medizinischen Alltags [25-28]. Die in der Gastroenterologie verwendeten Atemtests stellen einen Sonderfall dar. Es sind vornehmlich ¹³C-

kohlenstoffbasierte Atemtests. Diese Verfahren dienen zur Feststellung der Aktivität bestimmter Enzymsysteme und bedürfen die systemische Applikation spezifischer Substanzen. Auch der H₂-Atemtest zur Bestimmung des Kohlenhydratmalabsorptionssyndroms, benötigt die gezielte alimentäre Zufuhr von Kohlenhydraten [29-31].

Im Folgenden lediglich grob skizzierend dargestellt, reicht die Bandbreite des diagnostischen Potentials der Atemgasanalyse von der Erkennung verschiedener Tumorerkrankungen [32-38], dem Nachweis von Abstoßungsreaktionen nach Organtransplantation [39-43] bis hin zu Lungenerkrankungen unterschiedlichster Ätiologien, wie zystischer Fibrose, Asthma bronchiale, Emphysem, COPD, ARDS, Asbest-assoziierten Erkrankungen und Infektionen [44-54]. Auch bei verschiedenen Lebererkrankungen [17, 55-61] oder bei Einschränkungen der Nierenfunktion [62-64] konnten Veränderungen der Konzentration bestimmter flüchtiger organischer Verbindungen gezeigt werden. Im Rahmen kardiovaskulärer Erkrankungen wurden atemgasanalytische Korrelate für sowohl nicht-ischämische Kardiomyopathien [65, 66] als auch akuten Myokardinfarkten [67, 68] bis hin zur pulmonal-arteriellen Hypertonie [69] erkannt. Aber auch im Kontext von Stoffwechselerkrankungen, Schizophrenien [70, 71], Infektionen [72], Präeklampsie [73] und vielen weiteren pathologischen Vorgängen wurden Veränderung der Ausatemluft im picomolaren Bereich aufgezeigt.

1.2 Definition von volatilen organischen Verbindungen

Die Definition des Begriffes „Volatiler flüchtiger organischer Verbindungen“ ist im medizinischen Kontext nicht genau definiert. Die meisten Autoren, welche sich mit der Atemgasanalytik beschäftigen subsumieren unter diesem Oberbegriff jene gasförmigen Substanzen, welche neben den Hauptbestandteilen der menschlichen Ausatemluft in geringsten Konzentrationen in dieser erscheinen.

Die Weltgesundheitsorganisation definiert als VOCs „...alle organischen Verbindungen (Substanzen, welche primär auf Kohlenstoff und Wasserstoff basieren) mit einem Siedepunkt zwischen 50 und 260° Celsius (mit Ausnahmen von Pestiziden) [74].

In der Bundesrepublik Deutschland ist eine VOC gesetzlich definiert als „eine organische Verbindung, die bei 293,15 Kelvin einen Dampfdruck von 0,01 Kilopascal oder mehr hat oder unter den jeweiligen Verwendungsbedingungen eine entsprechende Flüchtigkeit aufweist. Der Kreosotanteil, der bei 293,15 Kelvin diesen Dampfdruck übersteigt, gilt als VOC [75]“. Keine dieser Definitionen bezieht sich auf einen medizinischen Kontext. Diese beschreiben aber das Prinzip flüchtiger organischer Verbindungen in der Ausatemluft, so wie diese auch von Cicoletta definiert wurden, nämlich als kohlenstoffbasierte Verbindungen unterschiedlichster Substanzklassen, welche bei Raumtemperatur flüchtig sind [76]. Allerdings bezieht diese Sichtweise anorganische Verbindungen wie beispielsweise Ammoniak oder Stickstoffmonoxid nicht ein. Unter dem Oberbegriff „volatile organic compounds“ könnte man somit die unterschiedlichsten Verbindungen mit ihren jeweiligen verschieden chemischen Eigenschaften zusammenfassen. All diesen Verbindungen gemeinsam ist lediglich ihr hoher Dampfdruck beziehungsweise niedriger Siedepunkt, aufgrund dessen diese flüchtigen Verbindungen im biochemischen Milieu des Körpers sich in einem eher gasförmigen Aggregationszustand befinden und damit Voraussetzung zur Abgabe in die Atemluft und somit zur Exhalation gegeben ist [77].

1.3 Das Grundprinzip der Atemgasanalyse

Der Gasaustausch zwischen dem Organismus selbst und der Umgebungsluft, die sogenannte äußere Atmung, findet im Alveolarraum der Lunge statt. Dieser umfasst die alveolentragenden, letzten sieben Verzweigungsgenerationen der luftleitenden Atemwege. Die Alveolen mit einer Gesamtzahl von ca. 300 Millionen bilden eine Fläche von ca. 50-100 m² an welcher das Blut und die Atmosphäre nur durch die Alveolarmembran getrennt sind [19]. Die Alveolarmembran ist eine dünne Zellschicht mit ca. 2,2 µm Dicke, bestehend aus dem alveolären Oberflächenepithel und bindegewebsartigen Fasern, wobei die epitheliale Basalmembran mit der der umgebenden Kapillargefäße verschmolzen ist [78]. Zugleich wird die Lunge vom gesamten Herzzeitvolumen durchflossen [19], weshalb man den Alveolarraum auch als den „Headspace“ des Blutplasmas bezeichnen kann [79, 80].

Der „Headspace“ über einer Flüssigkeit ist der Raum, in welchem sich der Partialdruck eines Gases direkt proportional zum Partialdruck des in der Flüssigkeit gelösten Gases in Abhängigkeit vom Löslichkeitskoeffizienten einstellt. Dieses Verhältnis wird durch das Gesetz nach Henry definiert:

$$H_c = C_w \text{ (mol/l)} / C_a \text{ (atm)} \quad [81]$$

H_c = Henry-Konstante; C_w = Konzentration der Verbindung in der Flüssigkeit; C_a = Partialdruck der Verbindung über der Flüssigkeit

In der Lunge kommt es durch passive Diffusion entlang der Alveolarmembran zu einem sofortigen Äquilibrium der Partialdrücke, so dass die Konzentration in der Alveole in der Regel direkt die gemischtvenöse Konzentration widerspiegelt [20, 82-87], wobei nur chemische Verbindungen mit einem Molekulargewicht von unter 300 Dalton in der Lage sind diese Barriere zu passieren [88, 89].

Ein Atemzug repräsentiert kein einheitliches Gasgemisch, sondern stammt zu einem Teil aus den rein luftleitenden Atemwegen und zu einem anderen aus den Alveolen, also dem eigentlichen Ort des pulmonalen Gasaustausches.

Da nur jene Konzentrationen innerhalb des Atemzugvolumens, welche aus dem Alveolarraum stammen, Rückschlüsse auf die gemischtvenöse Konzentration einer flüchtigen Verbindung zulassen, ist es wichtig, um eine hohe Präzision der Messung zu erreichen, die intraalveolären Anteile korrekt zu identifizieren. Dies reduziert eine Verfälschung der Konzentrationen durch Dilution und Kontamination mit Totraumvolumen [90].

Als Modell für diese Konzentrationsunterschiede steht der CO_2 -Gehalt der Atemluft. Zu Beginn der Expiration wird Atemluft aus der Luftröhre ausgeatmet, die kaum CO_2 enthält. Erst zum Ende der Expiration wird reine Alveolarluft ausgeatmet, in der dann die CO_2 -Konzentration der alveolären Konzentration entspricht. Folglich sind die ausgeatmeten CO_2 -Konzentrationen end-expiratorisch am höchsten. Dies gilt nicht nur für CO_2 , sondern für alle VOCs, die in den Alveolen ausgetauscht werden und deren Konzentrationen end-expiratorisch am höchsten sind [91]. Kommt es zur Vermischung von Totraumvolumen und alveolärem Gas, wie z.B. bei gemischt-expiratorischen Gasproben, sinkt die Konzentration VOCs in diesen Proben. Aufgrund dessen wird die Gewinnung rein alveolärer Proben empfohlen [92].

Abbildung 1 zeigt den Verlauf der Kohlendioxidkonzentration einer Exhalation im Verlauf eines Atemzyklus einer gesunden Person an. Phase I repräsentiert die CO_2 -Konzentration des Anteils der aus den rein luftleitenden und damit nicht am pulmonalen Gasaustausch teilnehmenden Bereiche der Atemwege stammt. Phase II bildet den exhalierten Volumenanteil ab, welcher aus einem Gemisch aus Totraumvolumen und einem im Verlauf zunehmenden Anteil an Volumen aus den gasaustauschenden Arealen besteht. Das Plateau der Phase III hingegen stellt jenen Anteil dar, welcher aus dem intraalveolären Raum stammt. Phase IV wiederum zeigt den raschen Abfall der CO_2 -Konzentration im Rahmen der wiedereinsetzenden Inspiration von Umgebungsluft.

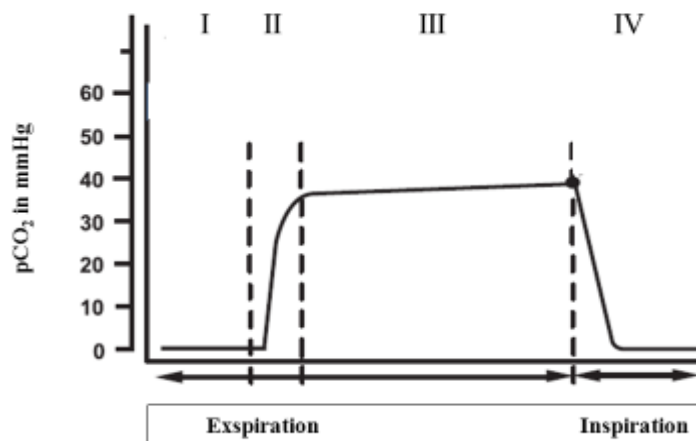


Abbildung 1: Kapnogramm mod. nach [93]; Exemplarische Darstellung des Konzentrationsverlaufes von CO_2 während eines vollständigen menschlichen Atemzyklus; $p\text{CO}_2$, Partialdruck von Kohlendioxid; mmHg, Millimeter Quecksilbersäule; Römische Bezifferung, Phasen eines Atemzyklus; detaillierte Erklärung im Text

Die Hauptbestandteile der Ausatemluft sind Sauerstoff, Stickstoff, Kohlendioxid, Wasser und die inerten Gase. Daneben finden sich in der Ausatemluft, individuell höchst unterschiedlich, bis zu 872 niedermolekulare VOCs, einschließlich einiger anorganischer Gase, in Konzentrationsbereichen von ppmv bis ppbv [80, 93-96].

Diese VOCs können endogenen Ursprungs, also Produkte physiologischer oder pathologischer Vorgänge im Körper sein, aber auch aus der Umwelt stammen, indem die Verbindungen selbst oder deren Vorstufen zuvor von der Umwelt durch Atmung, Ingestion oder durch Hautkontakt aufgenommen worden sind [89, 95, 97].

1.4 Die untersuchten flüchtigen organischen Verbindungen

Unter der Vielzahl, der bislang in der menschlichen Atemluft erkannten VOCs liegt der Focus dieser Untersuchung auf den flüchtigen organischen Verbindungen Aceton, Isopren, Ammoniak, Ethanol und Acetaldehyd. Diese werden zu den wichtigsten Vertretern gezählt. [89, 98, 99].

Wie im Folgenden dargestellt, gehören diese flüchtigen organischen Verbindungen zu jenen bereits sowohl in ihren physiologischen Grundlagen, als auch in ihrem diagnostischen Potential gut untersuchten flüchtigen organischen Verbindungen. In der thematisch relevanten Literatur sind, wie im Folgenden erläutert, ausreichend Vergleichsdaten bekannt. Aufgrund ihrer bekannten Eigenschaften wie der Abhängigkeit von Nahrungsaufnahme oder Wachheitsgrad konnte im Vorfeld ein möglicher Einfluss der definierten Studienbedingungen im Vorfeld postuliert werden.

Diese untersuchten flüchtigen organischen Verbindungen liegen auch in ihren zu erwartenden exhalierten Konzentrationen ausreichend über den beschriebenen technischen Nachweisgrenzen des verwendeten Messverfahrens mittels der IMR-Massenspektrometrie [90].

1.4.1 Aceton

Der Ketonkörper Aceton, der oft mit dem Geruch von faulen Äpfeln assoziiert wird, entsteht intrazellulär durch die Decarboxylierung von Acetoacetat, welches wiederum aus lipolytischen oder auch proteolytischen Prozessen stammt. Ein quantitativ sehr geringer Anteil entsteht auch durch die Dehydrogenierung von Isopropanol. Zu einer Erhöhung der Konzentration von Aceton in der Ausatemluft, welche eng mit der Plasmakonzentration korreliert, kommt es neben dem entgleisten Diabetes mellitus auch bei Energiemangelzuständen, wenn der Körper Fett anstatt Glucose als Energiequelle verwendet [92, 100, 101]. So konnte an einer Gruppe fastender Mönche eine Vervielfachung der exhalierten Acetonkonzentrationen festgestellt werden [102]. Smith et al. demonstrierten, dass die im Rahmen von Fasten angestiegenen Konzentrationen durch Nahrungsaufnahme sofort rückläufig waren [103]. Erhöhte Werte konnten bei Patienten mit Herzinsuffizienz, bei Alkoholmissbrauch oder auch Lebererkrankungen gemessen werden [59, 60, 65, 66, 100]. Patienten, an welchen eine extrakorporale

Zirkulation etabliert wurde, zeigten nach Beendigung dieser einen deutlichen Anstieg, welcher einen direkten Zusammenhang mit dem bestimmten Wert des C-reaktiven Proteins, als auch dem Troponin T aufwies [104]. Im Schlaf scheint es zu diskontinuierlichen Erhöhungen der Konzentration in der Ausatemluft zu kommen [105], aber auch eine Abhängigkeit von körperlicher Aktivität ist beschrieben worden. Ausdauersport von ein bis zwei Stunden Dauer führt ebenfalls zu einem Anstieg der Werte in der Ausatemluft [106].

1.4.2 Isopren

Ein weiterer Hauptmetabolit im menschlichem Atem ist das zur Gruppe der Hydrocarbone gehörende Isopren, welches vermutlich im engen Zusammenhang mit der endogenen Cholesterinsynthese steht [107]. Neben einer ausgeprägten interindividuellen Variabilität, besteht eine Altersabhängigkeit der Isoprenkonzentration [108]. Die Werte sind zwar unabhängig von alimentären Faktoren und dem Geschlecht, zeigen aber eine Abhängigkeit von körperlicher Aktivität, Herz- und Atemfrequenz, Rauchen, dem Schlaf- und Wachrhythmus sowie einer medikamentösen Therapie mit HMG-Reduktase-Hemmern [109, 110]. Kein Zusammenhang konnte zwischen den in der Expirationsluft gemessenen Werten und dem Plasmacholesterinwert oder dem Body-Mass-Index festgestellt werden [111].

Ein Kollektiv herzchirurgischer Patienten zeigte zum Zeitpunkt der Sternotomie einen signifikanten Anstieg der Konzentration, welcher kurz nach Beendigung der extrakorporalen Zirkulation wieder auf die ursprünglichen Werte zurückging [104]. Patienten mit ARDS exhalierten signifikant weniger Isopren, wohingegen bei Myokardinfarkten und Lebererkrankungen eine Erhöhung der Konzentrationen gezeigt wurde [60, 61, 67, 92]. Auch scheint es Hinweise auf eine Herkunft durch intestinale Bakterien bzw. durch gastrointestinale Mucosazellen zu geben [112]. King et al. zeigten einen signifikanten Anstieg unmittelbar nach Beginn einer körperlichen Belastung welcher aber bei gleichbleibender körperlicher Aktivität zeitnah wieder auf basale Konzentrationen zurückgeht [113].

1.4.3 Ammoniak

Ammoniak gehört ebenfalls zu den quantitativen Hauptmetaboliten in der Ausatemluft gesunder Personen [89]. Es entsteht einerseits durch den Metabolismus von Aminosäuren und deren Derivaten in den peripheren Geweben, als auch durch bakterielle intestinale und gastrale Aktivität [114]. Ammoniak wird in der Leber zu Harnstoff verstoffwechselt und im Verlauf renal eliminiert. Erhöhte Ammoniakkonzentrationen sind somit mit Einschränkungen der metabolischen Kapazität assoziiert [114]. Auch konnte eine Abhängigkeit von der Nahrungsaufnahme gezeigt werden. Unmittelbar postprandial kommt es zu einem diskreten Absinken der Konzentrationen in der Ausatemluft, woran sich im Verlauf einer Stunde ein Anstieg der Werte anschließt [103, 115]. Eine weitere bedeutsame Quelle für Ammoniak in der Ausatemluft scheint aber auch die Mund- und Nasenhöhle zu sein [114]. An leberzirrhotischen Patienten zeigte sich eine enge Korrelation zwischen der Konzentration in der Ausatemluft und jener im Blut [56]. Personen mit einer Infektion durch *Helicobacter pylori* zeigten gegenüber Gesunden eine erniedrigte basale Konzentration und einen überproportionalen Anstieg von Ammoniak in der Ausatemluft nach oraler Gabe von Harnstoff [116]. Bei terminal nierenkranken Patienten konnte gezeigt werden, dass das Ausmaß der Reduktion der exhalieren Ammoniakkonzentrationen in der Ausatemluft die Effizienz einer Dialyse widerspiegelt [117]. Auch scheint exhalierter Ammoniak das Potential zu besitzen, an Lungenkranken zwischen viralen und bakteriellen Infektionen der Atemwege differenzieren zu können [118].

1.4.4 Ethanol

Die Hauptquelle für Ethanol ist die direkte alimentäre Aufnahme durch alkoholische Getränke. Eine Blutalkoholkonzentration von 0,8 Promille entspricht 180 ppm in der Ausatemluft. Somit ist die Konzentration die juristisch mit einer Fahruntüchtigkeit einhergeht um den Faktor 1000 größer, als die Konzentrationen, welche aus endogenen Quellen stammen [119]. Auch bei Ethanol ist ein direkter Zusammenhang zur Nahrungsaufnahme gezeigt worden. Smith et al. berichteten über einen relevanten postprandialen Anstieg nach einer mehrstündigen Nahrungskarenzphase [103]. Diese Ergebnisse wurden durch die Arbeitsgruppe um Cope bestätigt, wobei dies neben der alimentären Ethanolzufuhr durch geringste Mengen an Ethanol in der Nahrung, durch einen bakteriellen Metabolismus von Kohlenhydraten im Darm bedingt ist [120, 121].

Die Ethanolkonzentrationen in der Atemluft zeigten des Weiteren einen direkten Zusammenhang mit dem Body-Mass-Index, als auch mit dem Geschlecht [122].

1.4.5 Acetaldehyd

Die flüchtige organische Verbindung Acetaldehyd ist eng an den Metabolismus von Ethanol geknüpft. Vor allem alimentär zugeführtes Ethanol wird in der Leber durch verschiedene Isoenzyme der Alkohol-Dehydrogenase enzymatisch zu Acetaldehyd metabolisiert. Das aus diesem Prozess entstandene Acetaldehyd wird unmittelbar über die Aldehyd-Dehydrogenase zu Acetat verstoffwechselt. Die Konzentration von Acetaldehyd in der Ausatemluft weist eine erhebliche interindividuelle Variabilität auf, welche sowohl von einer genetischen Disposition, welche eine unterschiedliche metabolische Kapazität der involvierten enzymatischen Prozesse zur Folge hat, als auch von exogenen Faktoren, wie zum Beispiel vom Nikotinkonsum, abhängt. Die luftleitenden Atemwege und die Mundhöhle tragen zum Teil erheblich zum Acetaldehyd-Gehalt der Ausatemluft bei. Ein Teil des Acetaldehydes entsteht durch den Abbau von bestimmten Aminosäuren und durch gastrointestinale bakterielle Aktivität. Aufgrund des hepatischen First-Pass-Metabolismus und der in der Leber lokalisierten Stoffwechselvorgänge erreichen nur geringe Mengen Acetaldehyd die peripheren Kompartimente. Wiederum nur ein geringer Anteil des Acetaldehydes ist nicht an andere Moleküle wie Hämoglobin, Proteine oder bestimmte Phospholipide gebunden und damit überhaupt in der Lage in den Alveolarraum überzutreten [123, 124]. Aufgrund der spezifischen physiko-chemischen Eigenschaft und der daraus resultierenden schnellen Angleichung der Partialdrücke in pulmonalem Blutplasma und den Alveolen scheint die Atemluftkonzentration grundsätzlich gut der hepatischen Produktion zu entsprechen [125]. Erhöhte Konzentrationen von Acetaldehyd wurden beispielsweise bei Rauchern, abstinenten Alkoholikern, Patienten mit Zirrhose aufgrund einer alkoholbedingten Hepatitis bzw. anderweitigen Zirrhose bedingtem Leberversagen, bei Kindern mit nichtalkoholischer Fettleber, aber auch bei akutem Lungenversagen beobachtet [59, 60, 123, 126]. In einer in-vitro Untersuchung wurde aufgezeigt, dass von kultivierten Lungenkrebszellen Acetaldehyd sezerniert wurde [127].

1.5 Fragestellung

Trotz des rasanten Gewinns neuer Informationen auf dem Gebiet der flüchtigen organischen Verbindungen sind bislang noch viele Fragen unbeantwortet. Nur wenige der Substanzen, welche in der Ausatemluft erscheinen sind bislang systematisch untersucht worden. In vielen Fällen sind Ursprung, Metabolismus, Verteilung, Bedeutung etc. noch nicht bekannt [128].

Die Umwelt, in welcher der Mensch sich aufhält, aber auch die individuelle Lebensweise und auch die Ernährung haben einen wesentlichen Einfluss auf die Konzentrationen flüchtiger organischer Verbindungen in der Ausatemluft [97, 129]. Terence Risby fasst dies zusammen: „Composition of your breath is related to what you have inhaled, what you have ingested, what is your normal physiology, what is your abnormal physiology” [80].

Daher war es das **Ziel der Arbeit** zu prüfen, in welchem Ausmaß die Vereinheitlichung der Umwelteinflüsse, also Umgebung, Ernährung und Tagesablauf die Konzentrationen dieser hier untersuchten flüchtigen organischen Verbindungen Aceton, Isopren, Ammoniak, Ethanol und Acetaldehyd in der menschlichen Ausatemluft beeinflusst.

2 Material und Methoden

2.1 Die Probanden

Für diese Untersuchung wurde ein Kollektiv von Freiwilligen rekrutiert. Einschlusskriterien waren neben dem männlichen Geschlecht, ein biologisches Alter von 20 bis 45 Jahren, die psychische und physische Bereitschaft an der gesamten Untersuchung teilzunehmen und das Vorliegen einer schriftlichen Einverständniserklärung. Allen teilnehmenden Probanden wurde im Vorfeld schriftlich und mündlich der Zweck der Untersuchung dargelegt.

Die Untersuchung wurde durch die Ethik-Kommission der Ärztekammer Nordrhein unter der Bezeichnung „THERMO-Studie, 2006124“, geprüft und genehmigt.

Zu den Kriterien, welche einen Ausschluss an der Teilnahme zu Folge hatten gehörten folgende Faktoren:

- Jegliche Art von Lungen- und Atemwegserkrankungen
- Keine zu Beginn der Studie schriftlich vorliegende Einverständniserklärung
- Drogen-, Medikamenten- oder Alkoholabusus (> 20-30 g Alkohol/Tag)
- Ein Body-Mass-Index größer 27 kg/m²
- Nierenerkrankung
- Teilnahme an einer anderen klinischen Studie innerhalb von 30 Tagen vor Beginn der Untersuchung
- Nikotinabusus
- Diabetes mellitus
- Rheumatische Erkrankungen
- Hauterkrankungen
- Hals-, Nasen-, Ohrenerkrankungen
- Psychische Erkrankungen, insbesondere Klaustrophobie
- Jeder andere Zustand der nach Ansicht des Prüfers den Probanden ungeeignet erscheinen lässt

Mindestens eine Woche vor Beginn wurden alle Teilnehmer einer vollständigen körperlichen Untersuchung, einschließlich einer otoskopischen Kontrolle, einer

dermatologischen Untersuchung, einem 12-Kanal-Ruhe-EKG als auch einem Belastungs-EKG, einer nichtinvasiven Blutdruckmessung und einer gründlichen Anamnese zum Ausschluss etwaiger vorbestehender Erkrankungen unterzogen. Es wurden folgende laborchemischen Parameter erhoben: kleines Blutbild, Albumin, GPT, C-reaktives Protein, Kreatinin, gamma-GT, Blutglucose, Hämoglobin, Natrium, Kalium, Protein, Harnstoff. Der Urin der Probanden wurde auf Glucose, Protein und Urobilinogen hin kontrolliert, sowie nach schriftlicher Einverständniserklärung eine serologische Untersuchung auf eine mögliche Infektion mit HIV und Hepatitis durchgeführt. Durch den Umfang der Einschlussuntersuchung war es weitgehend möglich, Umstände, welche den Ausschlusskriterien entsprechen, zu erkennen.

2.2 Die Forschungseinrichtung AMSAN

Die arbeitsmedizinische Simulationsanlage AMSAN ist eine Vielzweckforschungseinrichtung des Instituts für Luft- und Raumfahrtmedizin des Deutschen Zentrums für Luft- und Raumfahrt (DLR). Lokalisiert ist diese Einrichtung auf dem Gelände des Standortes Köln des Deutschen Zentrums für Luft- und Raumfahrt mit postalischer Anschrift: Lindener Höhe, 51147 Köln.

Die ca. 300 Quadratmeter große Einrichtung ist dafür ausgelegt, bis zu acht Versuchspersonen gleichzeitig für längere Zeit zu beherbergen. Diese Anlage bietet die Möglichkeit als geschlossenes System betrieben zu werden. Neben einer Vollklimatisierung, ist sie vollkommen schallgeschützt und bietet ausschließlich künstliches Licht. Die Luftfeuchte wurde auf Werte zwischen 68 und 73 % reguliert, der Tag-Nacht-Rhythmus wurde auf ein Verhältnis von 16 zu 8 Stunden eingestellt. Die Verpflegung innerhalb der Einrichtung war für alle Studienteilnehmer standardisiert.

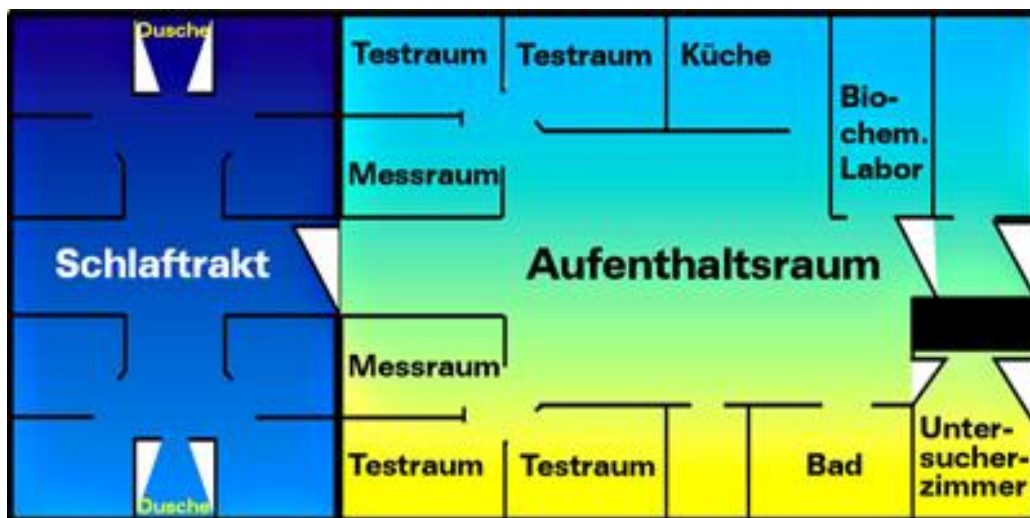


Abbildung 2: Räumlichkeiten der AMSAN- Forschungseinrichtung [130]

2.3 Durchführung der Studie

Die Untersuchung wurde an acht gesunden, männlichen Teilnehmern im Rahmen der THERMO-Studie durchgeführt. Die Probanden wurden im Zeitraum vom 23. Juli 2006 bis einschließlich 11. August 2006 in der arbeitsmedizinischen Simulationsanlage (AMSAN) für jeweils insgesamt 10 Tage von der Umgebung isoliert und unter standardisierten Bedingungen untergebracht. Die Untersuchung wurde durch das Institut für Luft- und Raumfahrtmedizin des Deutschen Zentrums für Luft und Raumfahrt in Köln-Wahn geplant und umgesetzt. Die wissenschaftlichen Ziele dieser Untersuchung der Atem- und Raumluftgase wurden durch die Klinik für Anaesthesiologie der Ludwig-Maximilians-Universität definiert und im Rahmen der Kooperation mit dem DLR vor Ort umgesetzt. Die Probenanalyse erfolgte in München im Labor der Klinik für Anästhesiologie.

Die THERMO-Studie stellte eine Untersuchung über die Wärmeregulation des Körpers bei Änderung der intrathorakalen Druckverhältnisse in 6° Kopftieflage dar. Zu diesem Zweck wurden die Probanden an den Tagen fünf, sieben und neun des Untersuchungszeitraums mittels einer Druckkammer in einer 6° Körpertieflage unterschiedlicher Umgebungsdrücken exponiert. Die in dieser Arbeit dargestellten Konzentrationen flüchtiger organischer Verbindungen in der Ausatemluft wurden in der sogenannten Adaptionsphase, den ersten fünf Tagen der Untersuchung erhoben. Diese fünf Tage stellten somit einen Zeitraum der Anpassung an die Verhältnisse der Isolation dar. Eine Gruppe aus je zwei Teilnehmern wurde jeweils um einen Tag zeitversetzt am Vorabend vor Beginn der Untersuchung nacheinander in die Einrichtung aufgenommen. Daraus resultierte, dass die Messzeitpunkte der einzelnen Teilnehmer sich nicht kalendarisch entsprachen und auch der Studienzeitraum, welcher der eigentlichen Adaptionsphase entsprach, vom Zeitpunkt der ersten Probenabgabe der ersten beiden Teilnehmer bis zur letzten Probenabgabe der letzten beiden Teilnehmer sich über insgesamt zwölf Tage erstreckte.

2.3.1 Tagesablauf

Während dem Untersuchungszeitraum war der Verlauf eines Tages für jeden der Teilnehmer standardisiert. In Tabelle 1 ist exemplarisch der Tagesablauf an einem Tag mit Gewinnung einer Atemprobe dargestellt.

Tabelle 1: Tagesablauf der Teilnehmer

Uhrzeit	Aktion
6:40	Wecken
7:00	Atemprobe
8:00	Frühstück
10:30	Zwischenmahlzeit
13:00	Mittagessen
16:00	Zwischenmahlzeit
17:00	Atemprobe
19:00	Abendessen
21:30	Snack
22:30	Spätgetränk
23:15	Bettruhe

2.3.2 Die Gewinnung der Atemluftproben

Die Atemluftproben wurden von jedem Teilnehmer am ersten und am dritten Tag jeweils vormittags und nachmittags, sowie am fünften Tag nur vormittags gewonnen. Die vormittägliche Abnahme war jeweils in einem Zeitraum zwischen 7 und 8 Uhr, die der nachmittäglichen Proben zwischen 17 und 19 Uhr. Die Probengewinnung fand unter Ruhebedingungen statt. Die Atemproben wurden pro Messzeitpunkt in einem standardisierten Vorgehen in vier sterilisierte Glasröhrchen (Machery-Nagel, N-20 PE, 20 ml) verbracht. Parallel zu den Atemproben wurde jeweils eine Raumluftprobe genommen. Das Verfahren wurde von jedem Teilnehmer zuvor mehrfach eingeübt, um sicher zu stellen, dass es keinesfalls zu irgendeiner Kontamination des Strohhalms oder des Probenbehälters kam.

Insbesondere wurden die Teilnehmer angewiesen,

- vor der Abgabe der Probe auf das Reinigen der Zähne zu verzichten
- innerhalb von sieben bis 10 Sekunden bis zur maximalen Expiration durch einen handelsüblichen Strohhalm, welcher am Boden des Gefäßes platziert wurde, auszuatmen.
- den Strohhalm oder das Innere der Verschlusskappe keinesfalls zu berühren
- das Behältnis unmittelbar nach der Abgabe der Atemprobe mit Hilfe eines Assistenten mittels einer Verschlusskappe aus Teflon (Machery-Nagel, N-20, TB/oA) luftdicht zu verschließen.

Durch Bestimmung der CO₂-Konzentration (zum Zeitpunkt der massenspektrometrischen Analyse) wurde jeweils der endtidale Ursprung gesichert. Die Atemproben wurden anschließend bis zur endgültigen Analyse im Massenspektrometer bei -60° C gelagert, um einen Zerfall der Bestandteile der Atemproben zu vermeiden. Dieses Verfahren wurde bereits mehrfach von anderen Arbeitsgruppen beschrieben und verwendet [44, 61, 131, 132].

2.3.3 Ionen-Molekül Reaktions Massenspektrometrie

Das Grundprinzip der Massenspektrometrie, erstmals beschrieben zu Beginn des 20. Jahrhunderts von Thomson und Aston, ist die Auftrennung geladener Moleküle entsprechend ihres Massen-zu-Ladungsverhältnisses in einem elektrischen Feld. Massenspektrometer erzeugen auf unterschiedliche Weise einen Strahl Ionen, trennen diesen auf und bilden dadurch ein Spektrum der enthaltenen Massen ab [101]. Somit können in komplexen Gemischen bekannte Substanzen identifiziert und quantifiziert werden, als auch unbekannte Substanzen, im Wesentlichen durch die Bestimmung ihres Molekulargewichts und den Nachweis funktioneller Gruppen in ihrer Struktur analysiert werden [133].

Das in dieser Arbeit verwendete „Airsense Compact“ der österreichischen Firma V&F Analyse- und Messtechnik GmbH wurde von dieser Arbeitsgruppe bereits in anderen Fragestellungen bzgl. der Atemgasanalyse verwendet und stellt somit ein etabliertes Verfahren dar [44, 90, 134].

Das Airsense compact-Massenspektrometer ist eine mobile Einheit, bestehend aus dem eigentlichen Ionen-Molekül Reaktions Massenspektrometer (IMR-MS) und einem der Steuerung und Datenverarbeitung dienendem Computersystem. Die Ionisation durch die Ionen-Molekül Reaktion ist ein Verfahren, welches als „chemische Ionisation“ bezeichnet wird. Hierbei kommt es innerhalb der Ionisationsregion zum Ladungsübergang vom Analytmolekül auf das zur Ionisation verwendete Primärion.

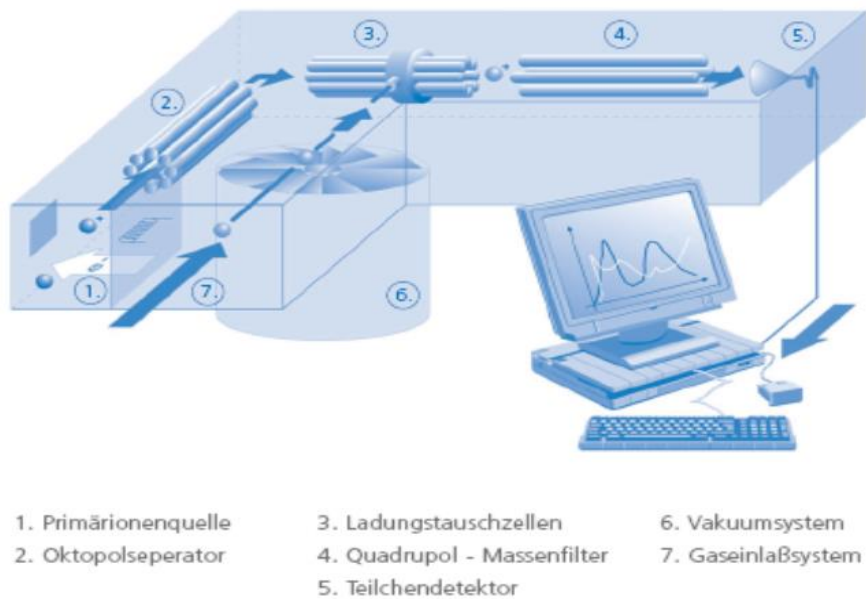


Abbildung 3: Aufbau des Massenspektrometers [134]

Das IMR-MS verwendet zur Ionisierung der Analysat-Moleküle Quecksilber-, Xenon- oder Kryptonionen, welche in der Primärionen-Quelle (1) durch Elektronenstoßionisation erzeugt werden. Der so erzeugte Primärionenstrahl wird in einem Oktopolseparator (2) gebündelt und von unerwünschten Sekundärionen getrennt. Die eigentliche Ionisation der Analysatmoleküle findet in einem nachgeordneten Oktopolseparator (3) statt. Hierbei kommt es zum Übergang von Elektronen der Analytmoleküle auf die jeweiligen Primärionen. Dieser Elektronenübergang auf das Primärion findet immer dann statt, wenn das Ionisationspotential des primären Ions höher als das Ionisationspotential des Analysats ist und somit die Energiebilanz der Reaktion positiv ist. Überschüssige Energie wird in dem neu generierten Molekül initial in einem Übergangszustand gespeichert. Entweder wird das Molekül fragmentiert, in dem es an seiner schwächsten Stelle gespalten wird oder die eingebrachte Energie wird in internen Freiheitsgraden, wie Vibration der Elektronen oder Bindungsschwingungen gespeichert. Durch die Verwendung von unterschiedlichen Primärionen mit jeweils unterschiedlichen Ionisationspotentialen können auch Verbindungen gleicher Molekularmassen differenziert werden [134].

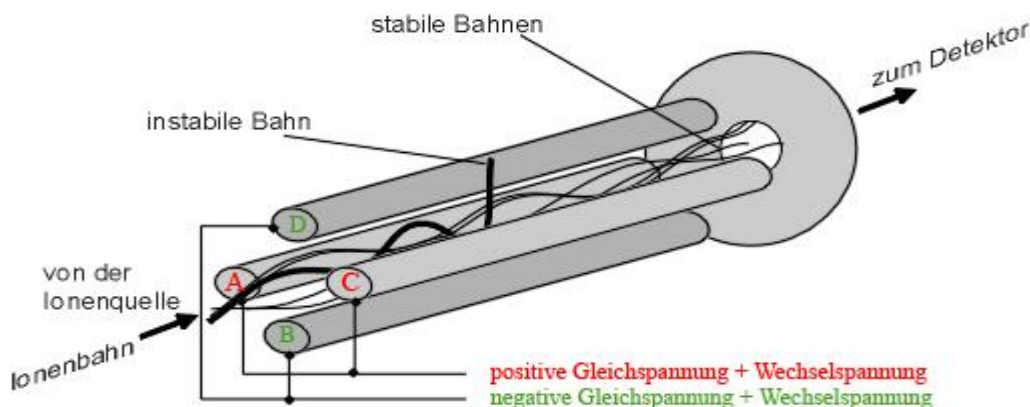


Abbildung 4: Aufbau des Quadrupol-Massenfilter [135]

Der danach angeordnete Quadrupol-Massenfilter (4) stellt die eigentliche Analyse-Einheit des Systems dar. An den vier parallel angeordneten Metallstäben wird durch das Anlegen geeigneter Gleich- und Wechselstromfelder erreicht, dass nur Ionen mit einem spezifischen Masse-zu-Ladungsverhältnisses den Massenfilter passieren können, da nur diese in dem angelegten elektrischen Feld eine stabile Flugbahn erreichen, um den eigentlichen Teilchendetektor zu erreichen. Verbindungen mit anderen Masse-zu-Ladungsverhältnissen werden abgelenkt und somit entfernt. Durch schnellen Wechsel der angelegten Radiofrequenzspannungen kann in kurzer Zeit ein breites Spektrum an Masse-zu-Ladungsverhältnissen überprüft werden. Jene Ionen, welche den Quadrupol-Filter passiert haben, induzieren dann am nachgeordneten Ionen-Vervielfacher (5) einen Strom, welcher vom Zählsystem als Signal erkannt wird [136].

Zur Analyse wurden die zur Probensammlung verwendeten Glasbehälter in einen an das Massenspektrometer angeschlossenen Headspace Sampler (G1888, Agilent Technologies, California, USA) verbracht und dort auf 65° Celsius erhitzt. Die Glasbehälter wurden dann zur eigentlichen Messung automatisiert, mittels einer Probenentnahmenadel punktiert und das Probengas über ein beheiztes Kapillarsystem (7) mit einer Flussrate von 50 ml/min in die Ladungsaustauschkammer des IMR-MS geleitet.

Vor den eigentlichen Messungen erfolgte eine Kalibration des IMR-MS durch die Messung eines Testgasgemisches mit: Acetaldehyd 1000 ppbv, Aceton 1010 ppbv, Ethanol 980 ppbv und Isopren 990 ppbv (Air Liquide, Paris, Frankreich; Carbagas,

Rümlang, Schweiz; Linde, München, Deutschland) in Stickstoff 5.0. Zur Kalibration gegenüber Kohlendioxid wurde ein Testgas mit einer Kohlendioxidkonzentration von 3,16 Vol% in Stickstoff 5.0 verwendet. Die Ammoniakkalibration wurde indirekt über die Isoprenempfindlichkeit vorgenommen. Die Variabilität der Messgenauigkeit im Zeitintervall von 12 Stunden betrug weniger als 5 %. In der Vergangenheit publizierte Daten zeigten eine untere Detektionsgrenze von 2,2 ppbv für Acetaldehyd, 3,9 ppbv für Aceton, 6,8 ppbv für Ethanol und 2,6 ppbv für Isopren [134].

2.4 Statistische Auswertung

Da aufgrund der geringen Fallzahl eine Normalverteilungsannahme nicht bestätigt werden konnte, wurden für die Untersuchung nicht-parametrische Verfahren verwendet. Alle Variablen sind als Median mit dem 25%- und 75%-Quantil angegeben. Für die graphische Darstellung wurden Boxplots erstellt. Hier repräsentiert die Box das 25%- und das 75%-Quantil. Der Median der Werte wird durch einen Strich innerhalb der Box gezeigt. Der Bereich zwischen dem 25%-Quantil und dem Minimum, als auch der Bereich zwischen 75%-Quantil und dem Maximum ist durch sogenannte Whisker gekennzeichnet. Liegen Werte außerhalb des 1,5-fachen Interquartilsabstandes, welcher dem Abstand zwischen dem 75%- und 25%-Quantil entspricht, so wird dieser Wert als Punkt markiert und als sogenannter Ausreißer definiert. Bei verbundenen Stichproben mit einer Wiederholung wurde der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test angewandt. Bei verbundenen Stichproben mit mehr als zwei Wiederholungen wurde der Test nach Friedman durchgeführt. Im Falle fehlender Werte wurde der Test nach Skillings-Mack angewandt [137]. Als Post-hoc-Test wurde der Nemenyi-Test verwendet. Als Signifikanzniveau wurde ein α von 5 % gewählt. Eine Korrektur für multiples Testen erfolgte aufgrund des Charakters der Studie zur Hypothesenerstellung und der geringen Teilnehmeranzahl nicht.

Die Auswertung der Daten wurde mit dem frei verfügbaren Statistikprogramm R Version 3.1.1 durchgeführt [138].

3 Ergebnisse

Für die Auswertung von Gewicht und Ernährung konnten die Ergebnisse aller Teilnehmer ausgewertet werden. Zur statistischen Auswertung der Konzentrationen der untersuchten flüchtigen organischen Verbindungen der Vormittage von Tag eins und fünf konnten die Ergebnisse von insgesamt sieben der Teilnehmer verwendet werden, zur Auswertung der Ergebnisse des Nachmittags des ersten und des Vormittags des dritten Tages die Werte von sechs Teilnehmern und in die Analyse des Nachmittages des dritten Tages gingen die Werte von fünf Teilnehmern ein.

3.1 Die Teilnehmer

3.1.1 Demographische Daten der Teilnehmer

In Tabelle 2 sind die demographischen Daten der Teilnehmergruppe vor Beginn der Untersuchung dargestellt. Die Gruppe der Teilnehmer bestand aus insgesamt acht männlichen Personen. Das Alter des jüngsten Teilnehmers betrug 23 Jahre, das des ältesten Teilnehmers 36 Jahre. Die Bandbreite der individuellen Body-Mass-Indices reichte von 22,6 kg/m² bis 26,3 kg/m².

Tabelle 2: Demographische Daten der Teilnehmer

Alter (in Jahren)	24,5 [23,74;25,25]
Größe (in cm)	182 [180;182,75]
Gewicht (in kg)	79,5 [77;81,75]
BMI (in kg/m²)	24 [23,7;25,03]

Darstellung der Werte als Median mit 25%- und 75%-Quantil; BMI, Body-Mass-Index: kg, Kilogramm; cm, Zentimeter

3.1.2 Verlauf des Körpergewichts der Probanden über den Untersuchungszeitraum

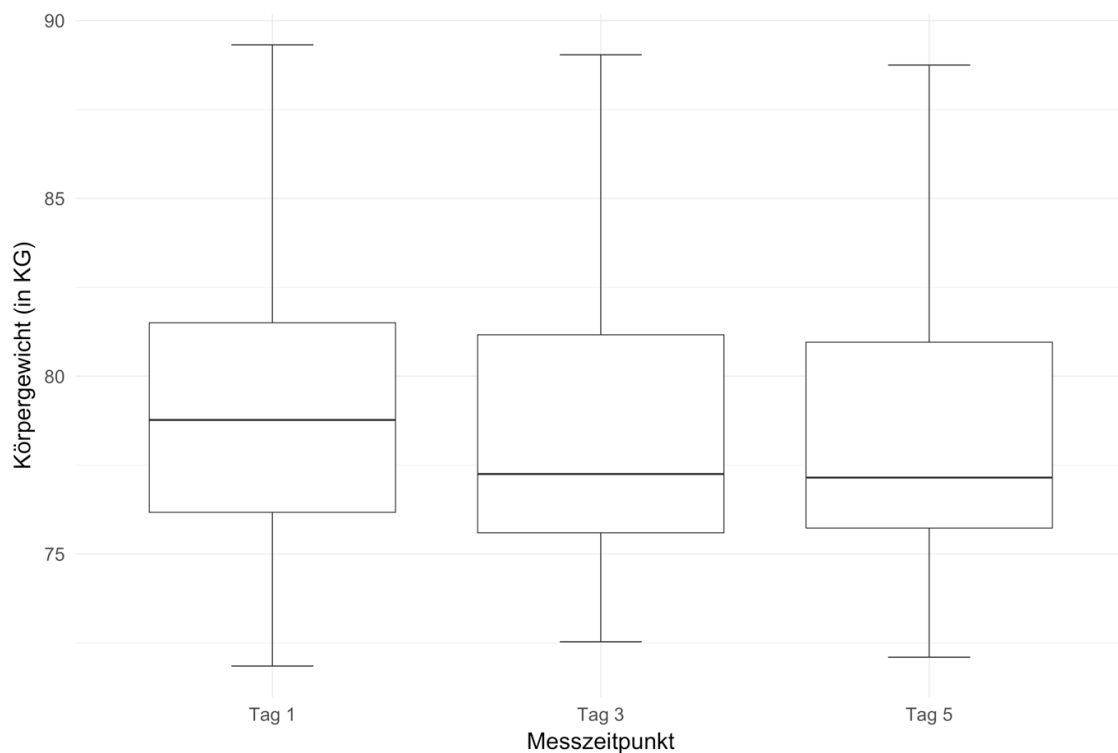


Abbildung 5: Boxplot des Gewichtsverlaufes über den Untersuchungszeitraum an den Untersuchungstagen eins, drei und fünf; Darstellung der Werte als Median mit 25%- und 75%-Quantil sowie Minimum und Maximum; KG, Kilogramm

Über den Beobachtungszeitraum verloren fast alle Teilnehmer an Körpergewicht. Die Abnahme des Körpergewichts der einzelnen Teilnehmer reichte von 0,19 kg bis zu einem maximalen Gewichtsverlust von 2,12 kg. Ein einzelner Teilnehmer nahm insgesamt 0,25 kg an Körpergewicht zu. Der Median des Körpergewichts der Teilnehmergruppe reduzierte sich bereits am dritten Tag der Untersuchung um dann zum fünften Tag hin zu stagnieren. Diese Entwicklung ist in Abbildung 5 dargestellt. Der durchgeführte Test nach Friedman zeigte mit einem p-Wert von 0,03 eine statistische Signifikanz an. Dies konnte in der durchgeführten post-hoc-Analyse nach Nemenyi zwischen den Tagen eins und fünf mit einem p-Wert von 0,033 bestätigt werden.

3.2 Die Ernährung

Tabelle 3: Übersicht über die Ernährung der Teilnehmer

	Tag					<i>P</i> *
	1	2	3	4	5	
Anzahl	8	8	8	8	8	
Protein (g)	86,3 [84,7;89,8]	87,5 [85,4;90,0]	87,2 [85,2;89,9]	85,3 [84,1;89,3]	86,7 [85,0;89,6]	0,583
Kohlenhydrate (g)	366 [356;387]	368 [356;382]	368 [359;375]	366 [354;376]	366 [359;376]	0,163
Fett (g)	85,0 [84,0;87,0]	85,5 [84,0;87,0]	86,0 [84,0;87,0]	86,5 [84,8;87,0]	86,5 [84,8;87,0]	0,135
Kcal	2632 [2586;2696]	2631 [2569;2657]	2637 [2593;2656]	2612 [2573;2659]	2627 [2583;2670]	0,036

Darstellung der Werte als Median mit 25%- und 75%-Quantil; g, Gramm; Kcal, Kilokalorien;

* Test nach Friedmann

Die Ernährung der Teilnehmer während des Untersuchungszeitraums ist in Tabelle 3 zusammengefasst dargestellt. Obwohl sich die Zufuhr von Proteinen, Kohlehydraten und Fetten nicht signifikant unterschied, konnte bei der Gesamtkalorienzufuhr ein statistisch signifikanter Unterschied festgestellt werden. Die post-hoc Testung nach Nemenyi zeigte jedoch keinen signifikanten Unterschied an.

3.3 Der CO₂- Gehalt der Atemproben

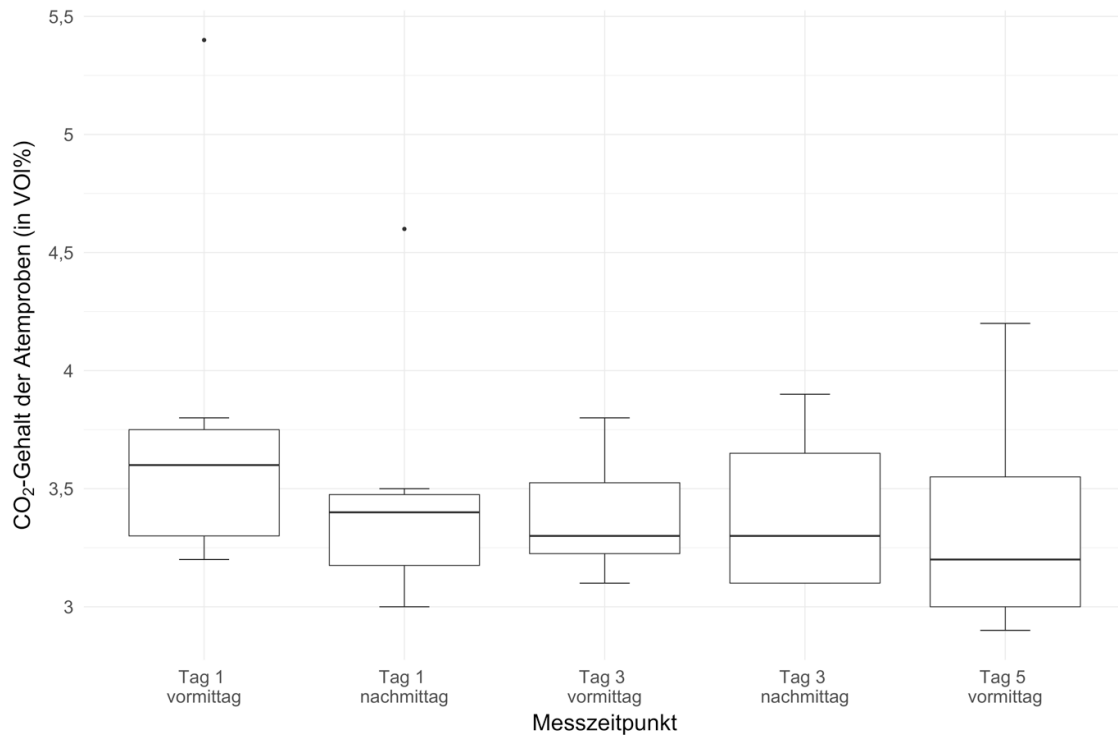


Abbildung 6: Boxplot des Kohlendioxidgehalts der ausgewerteten Atemproben; Darstellung der Werte als Median mit 25%- und 75%-Quantil sowie Minimum und Maximum; CO₂, Kohlendioxid; VOL%, Volumenprozent

Zur weiteren Auswertung wurden nur jene Atemproben mit mindestens 2,9 VOL% CO₂-Gehalt, als Nachweis eines strikt intraalveolären Ursprungs, verwandt. Abbildung 6 stellt graphisch den Kohlendioxidgehalt der ausgewerteten Atemproben der Teilnehmer dar. Der Median der Kohlendioxidkonzentration reicht von 3,20 [3,00;3,55] bis zu 3,60 [3,30;3,75]. Der Skillings-Mack-Test wies mit einem p-Wert von 0,156 keinen statistisch signifikanten Unterschied auf.

3.4 Die flüchtigen organischen Verbindungen in Raum- und Atemluft der Teilnehmer

3.4.1 Aceton

3.4.1.1 Aceton in der Raumluft

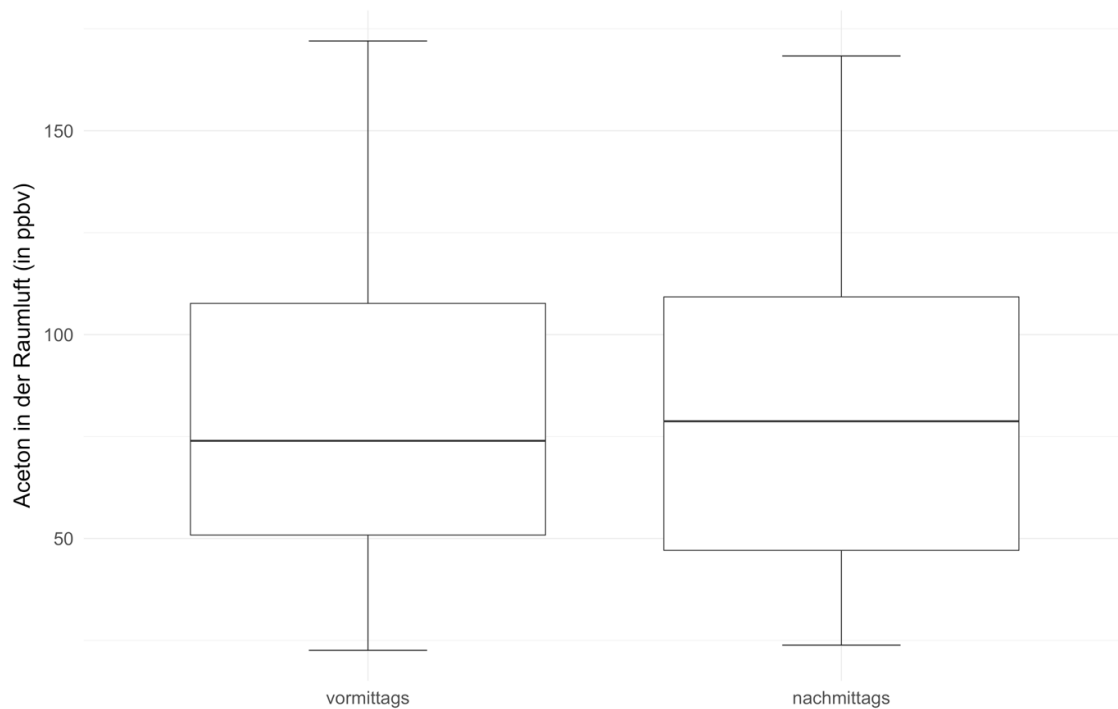


Abbildung 7: Boxplot der Konzentration von Aceton in der Raumluft zum Zeitpunkt der Messungen an den Vormittagen und Nachmittagen während der Gesamtstudiendauer in ppbv; Darstellung der Werte als Median mit 25%- und 75%-Quantil sowie Minimum und Maximum; ppbv, parts per billion by volume

Aceton, wie in Abbildung 7 ersichtlich, zeigte geringe Unterschiede der Raumluftmessungen im Tagesverlauf. Die durchgeführte statistische Analyse zeigte mit einem p-Wert von 0,97 keinen statistisch signifikanten Unterschied an.

3.4.1.2 Aceton in der Atemluft

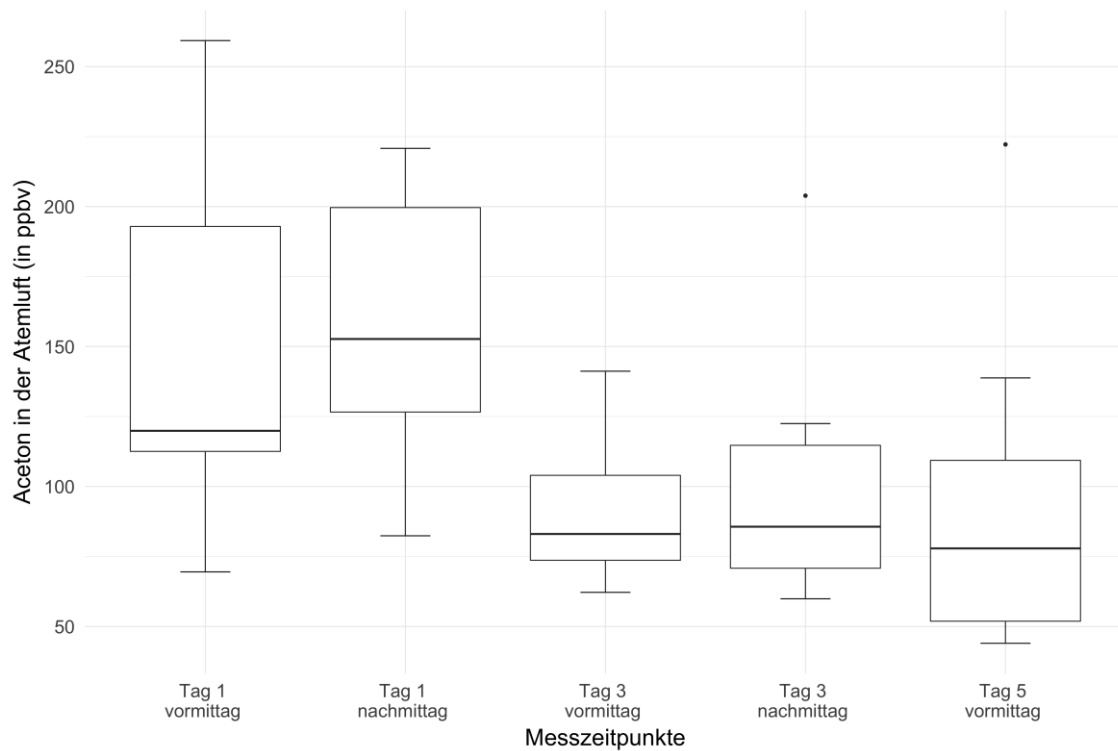


Abbildung 8: Boxplot der Konzentrationen von Aceton in der Atemluft der Teilnehmer in ppbv; Darstellung der Werte als Median mit 25%- und 75%-Quantil sowie Minimum und Maximum; ppbv, parts per billion by volume

In Abbildung 8 ist graphisch der Verlauf der Konzentration von Aceton in der Ausatemluft der Teilnehmer dargestellt. Die höchsten Werte konnten am ersten Untersuchungstag beobachtet werden, gefolgt von einem Rückgang am dritten und fünften Tag der Untersuchung, der aber bei einem p-Wert von 0,206 keine statistische Signifikanz erreichte. Die Konzentration am Nachmittag des ersten Tages erhöhte sich zwar, blieb jedoch dann im Tagesverlauf des dritten Tages stabil.

3.4.2 Isopren

3.4.2.1 Isopren in der Raumluft

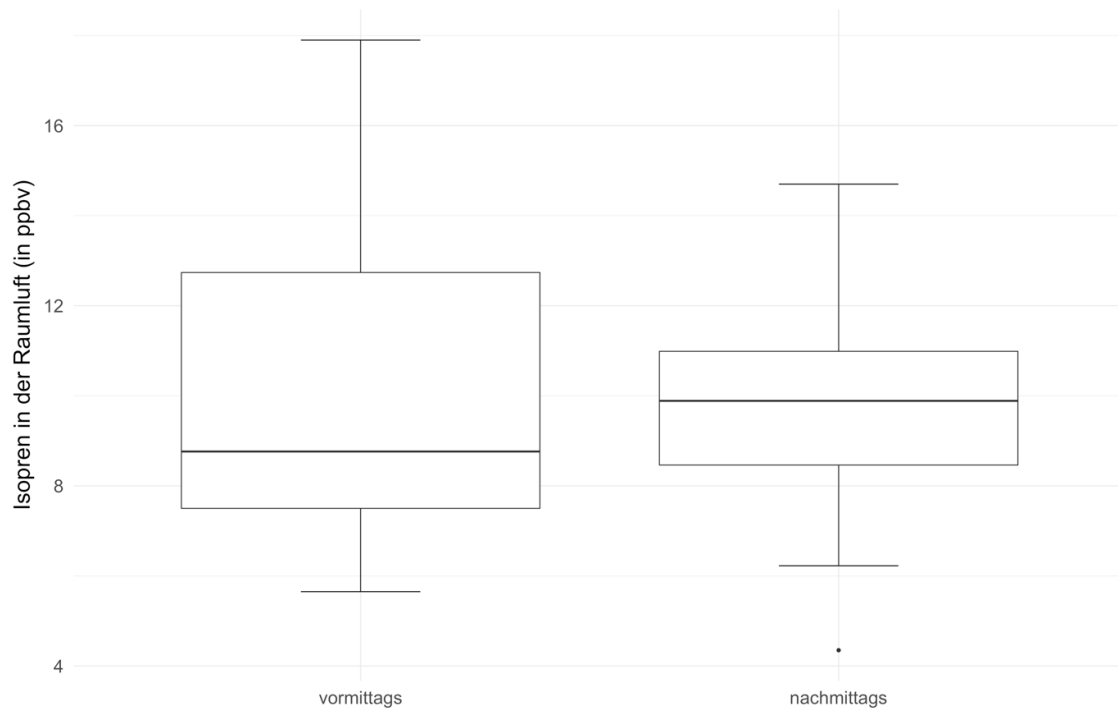


Abbildung 9: Boxplot der Konzentration von Isopren in der Raumluft zum Zeitpunkt der Messungen an den Vormittagen und Nachmittagen während der Gesamtstudiendauer in ppbv; Darstellung der Werte als Median mit 25%- und 75%-Quantil sowie Minimum und Maximum; ppbv, parts per billion by volume

Der Konzentration von Isopren in der Raumluft ist in Abbildung 9 dargestellt. Die Konzentration der Raumluftmessungen der Vormittage und der Messungen an den Nachmittagen war bei einem p-Wert von 1 ohne statistisch relevanten Unterschied.

3.4.2.2 Isopren in der Atemluft

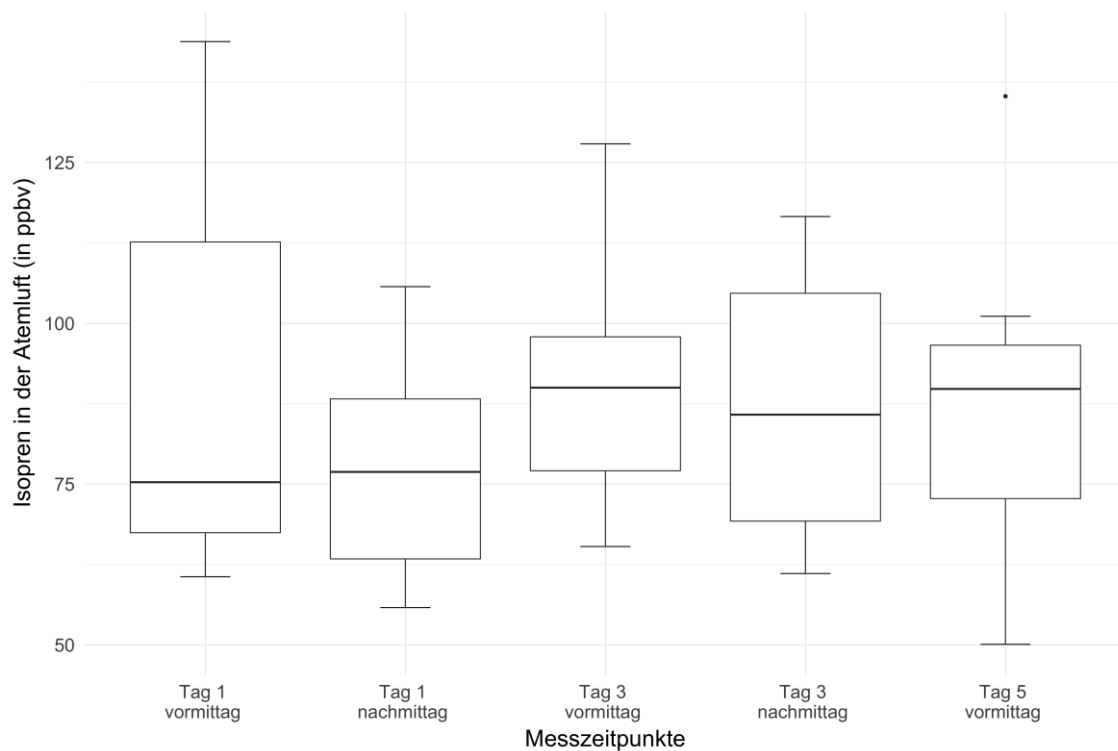


Abbildung 10: Boxplot der Konzentration von Isopren in der Ausatemluft der Teilnehmer in ppbv; Darstellung der Werte als Median mit 25%- und 75%-Quantil sowie Minimum und Maximum; ppbv, parts per billion by volume

Abbildung 10 zeigt die Konzentration von Isopren in der Ausatemluft der Teilnehmer über den Untersuchungszeitraum. Die Mediane der Messungen am Morgen erhöhten sich diskret von Tag eins zu Tag drei und fünf, blieben in den Tagesverläufen jedoch jeweils nahezu auf gleichem Niveau. Die statistische Analyse wies einen p-Wert von 0,072 und somit keine Signifikanz auf.

3.4.3 Ammoniak

3.4.3.1 Ammoniak in der Raumluft

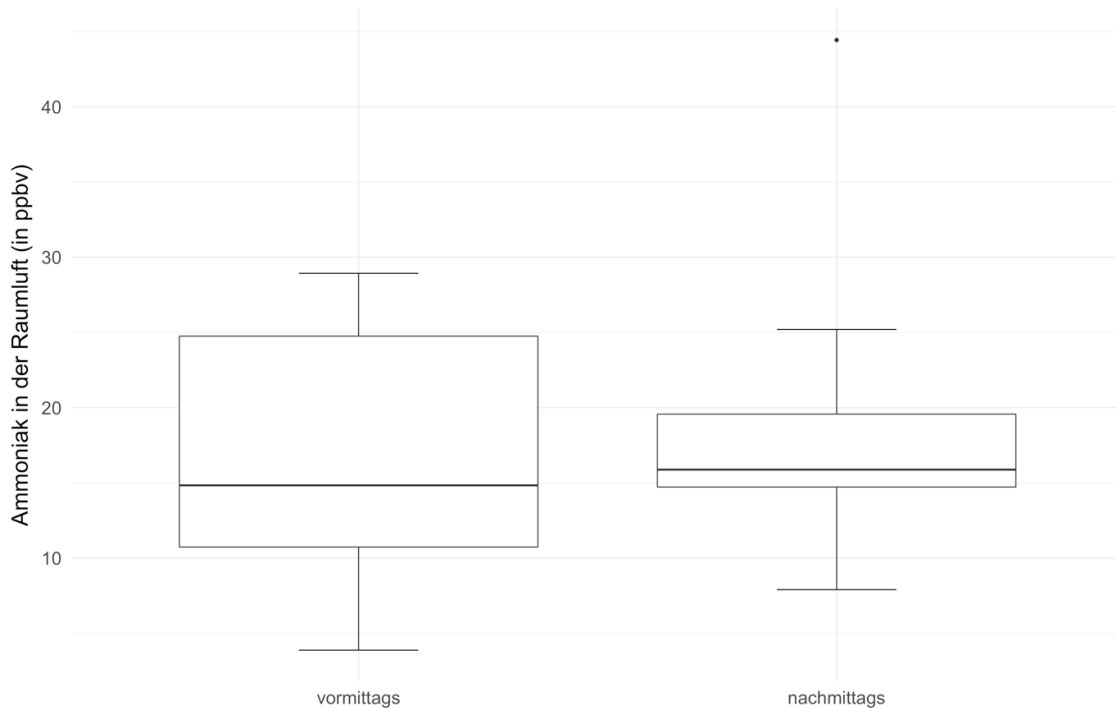


Abbildung 11: Boxplot der Konzentration von Ammoniak in der Raumluft zum Zeitpunkt der Messungen an den Vormittagen und Nachmittagen während der Gesamtstudiendauer in ppbv; Darstellung der Werte als Median mit 25%- und 75%-Quantil sowie Minimum und Maximum; ppbv, parts per billion by volume

Abbildung 11 repräsentiert die Konzentration von Ammoniak in der Einrichtung. Mit einem p-Wert von 1 war der Unterschied zwischen dem Median der Vormittage und dem der Nachmittage nicht signifikant.

3.4.3.2 Ammoniak in der Atemluft

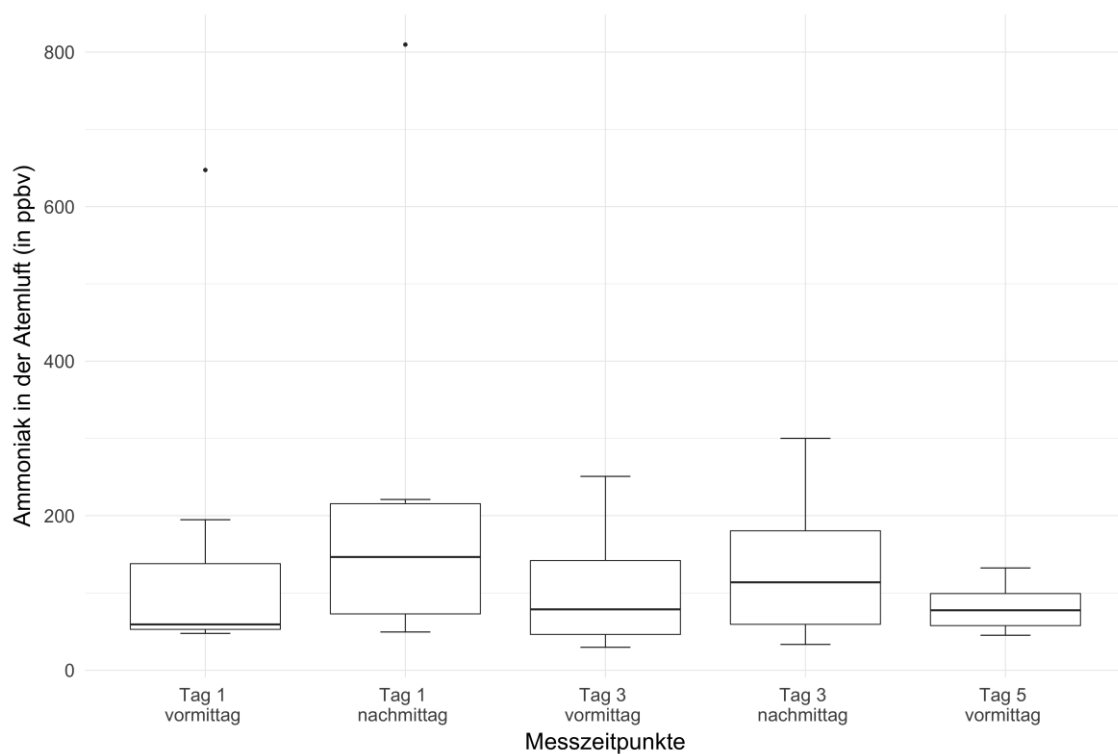


Abbildung 12: Boxplot der Konzentration von Ammoniak in der Ausatemluft der Teilnehmer in ppbv; Darstellung der Werte als Median mit 25%- und 75%-Quantil sowie Minimum und Maximum; ppbv, parts per billion by volume

Wie in Abbildung 12 ersichtlich, verdoppelte sich die Konzentration von Ammoniak in der Ausatemluft der Teilnehmer im Verlauf des ersten Tages. Am dritten Tag war dieser Anstieg im Tagesverlauf deutlich weniger ausgeprägt. Die Messungen an den Vormittagen wiesen einen Anstieg am dritten Tag auf und verblieben zum fünften Tag hin in diesem Konzentrationsbereich. Ein p-Wert von 0,278 zeigte eine ausbleibende statistische Signifikanz über den Untersuchungszeitraum an.

3.4.4 Ethanol

3.4.4.1 Ethanol in der Raumluf

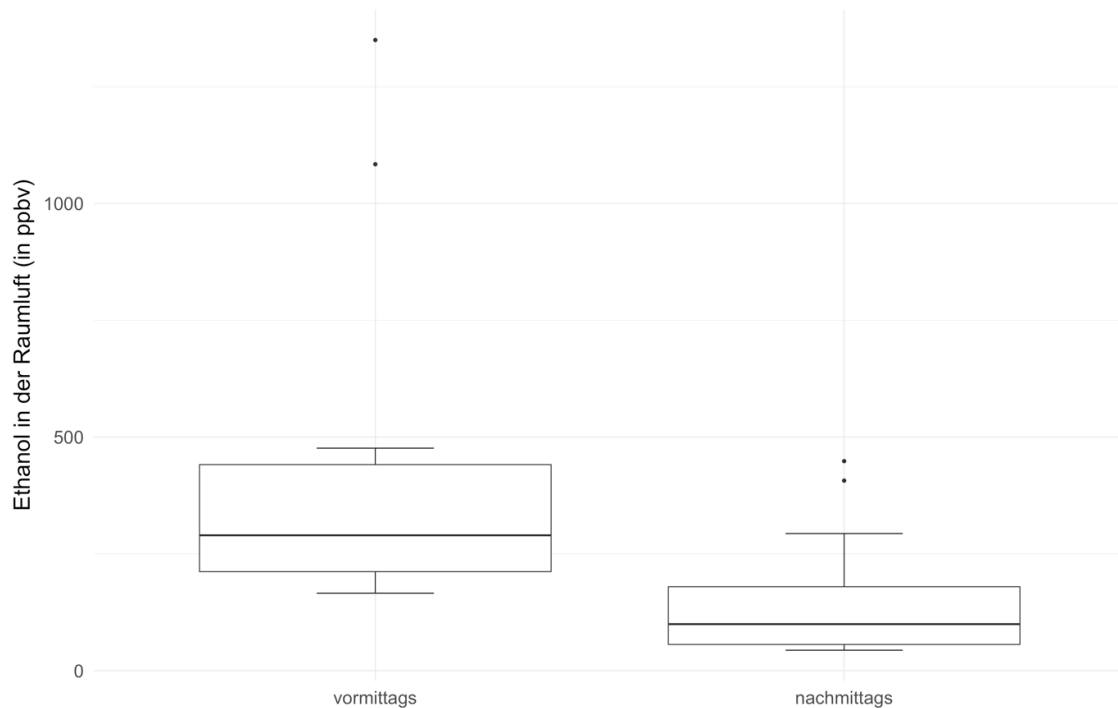


Abbildung 13: Boxplot der Konzentration von Ethanol in der Raumluf zum Zeitpunkt der Messungen an den Vormittagen und Nachmittagen während der Gesamtstudiendauer in ppbv; Darstellung der Werte als Median mit 25%- und 75%-Quantil sowie Minimum und Maximum; ppbv, parts per billion by volume

Der Median der Raumlufkonzentration von Ethanol an den Vormittagen gegenüber dem Median der Konzentrationen an den Nachmittagen unterschied sich mit einem p-Wert = 0,016 signifikant.

3.4.4.2 Ethanol in der Atemluft

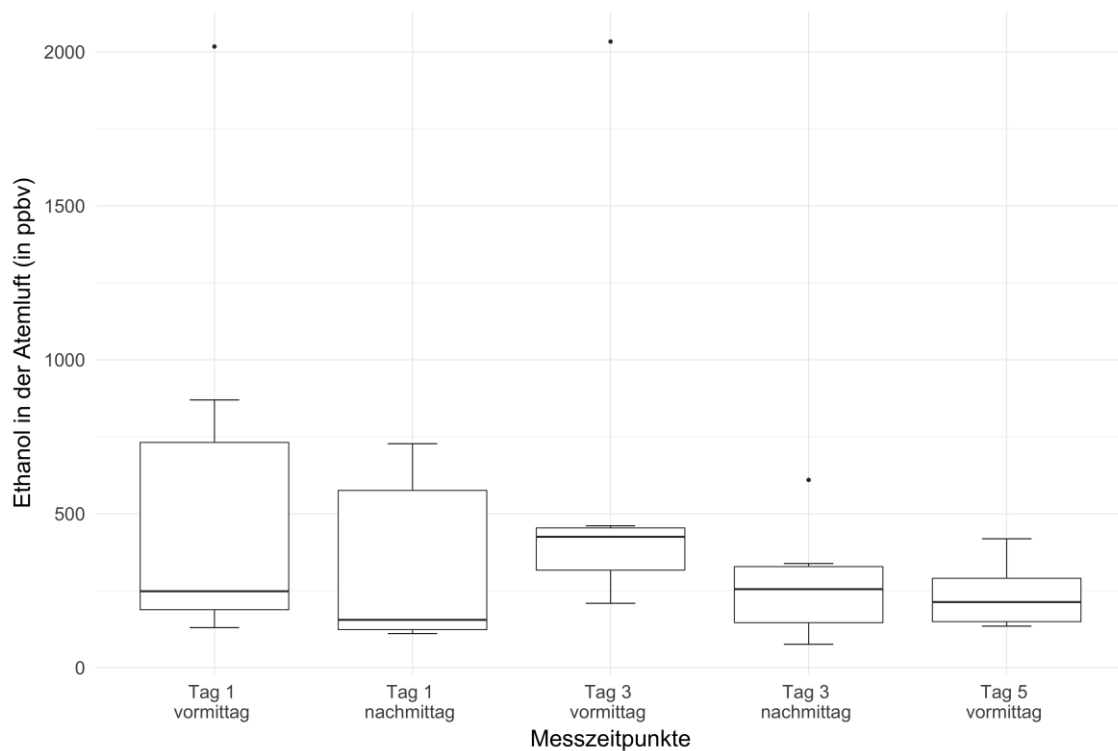


Abbildung 14: Boxplot der Konzentration von Ethanol in der Ausatemluft der Teilnehmer in ppbv; Darstellung der Werte als Median mit 25%- und 75%-Quantil mit Minimum und Maximum ppbv, parts per billion by volume

Die flüchtige Verbindung Ethanol in der Ausatemluft der Teilnehmer, wie in Abbildung 14 zu sehen, zeigte ihren Maximalwert am Vormittag des dritten Tages der Untersuchung, um im Verlauf wieder auf das Konzentrationsniveau des ersten Tages zurückzugehen. An beiden Nachmittagen reduzierten sich die Konzentrationen jeweils im Vergleich zu den am entsprechenden Vormittag bestimmten Werten. Bei einem p-Wert von 0,279 war dies nicht statistisch relevant.

3.4.5 Acetaldehyd

3.4.5.1 Acetaldehyd in der Raumluf

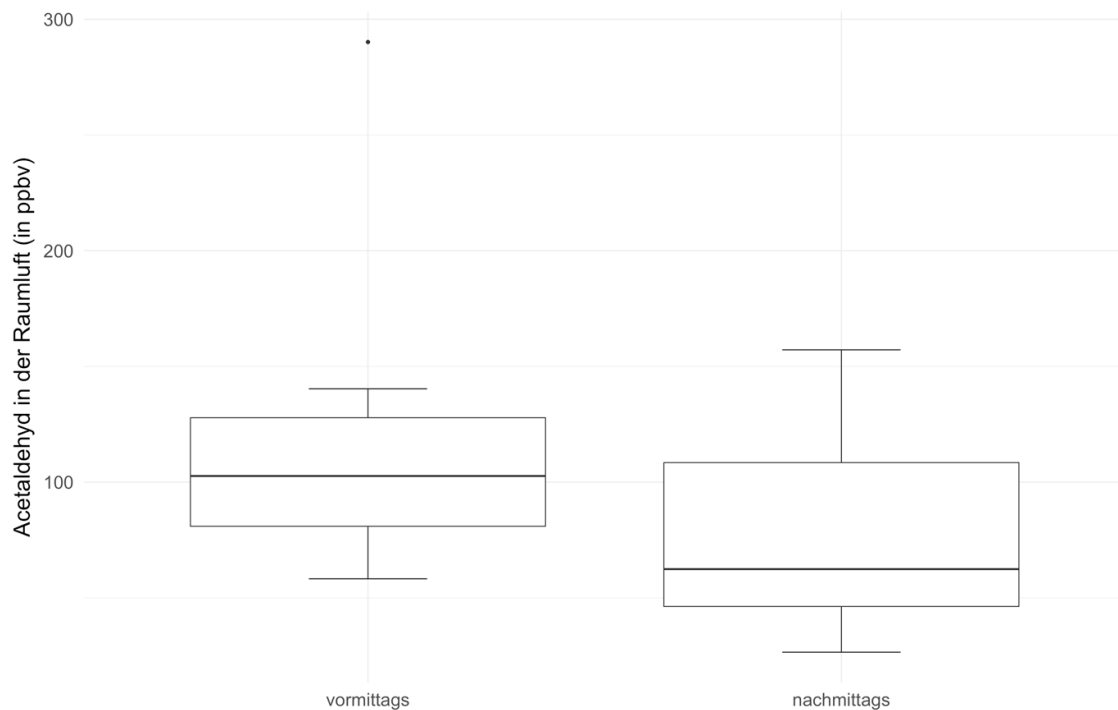


Abbildung 15: Boxplot der Konzentration von Acetaldehyd in der Raumluf zum Zeitpunkt der Messungen an den Vormittagen und Nachmittagen während der Gesamtstudiendauer in ppbv; Darstellung der Werte als Median mit 25%- und 75%-Quantil sowie Minimum und Maximum; ppbv, parts per billion by volume

Acetaldehyd, dessen Konzentrationen an den Vormittagen und Nachmittagen innerhalb der Einrichtung in Abbildung 15 dargestellt ist, wies mit einem p-Wert von 0,017 einen statistisch signifikanten Unterschied im Tagesverlauf auf.

3.4.5.2 Acetaldehyd in der Atemluft

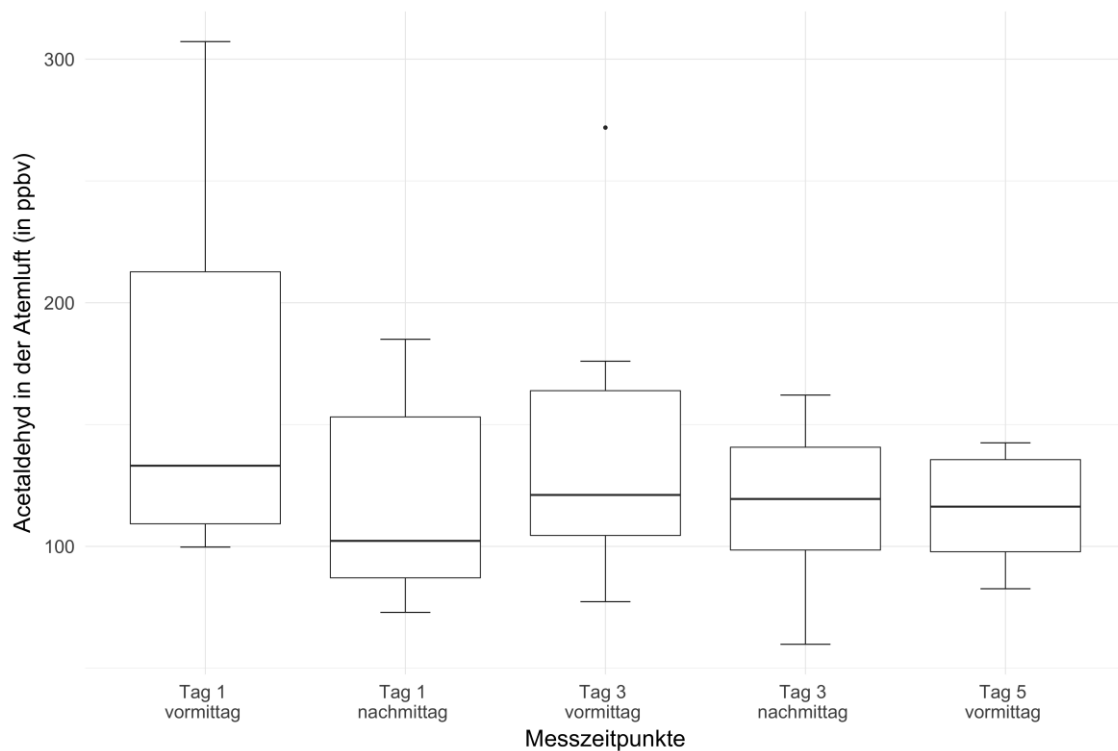


Abbildung 16: Boxplot der Konzentration von Acetaldehyd in der Atemluft der Teilnehmer in ppbv; Darstellung der Werte als Median mit 25%- und 75%-Quantil mit Minimum und Maximum; ppbv, parts per billion by volume

Die Konzentrationen von Acetaldehyd in der Ausatemluft der Teilnehmer ist in Abbildung 16 dargestellt. Die Konzentrationen an den Vormittagen reduzierten sich über den Untersuchungszeitraum in nur geringem Umfang. Zum Nachmittag des ersten Tages hin fiel ein leichter Rückgang der Konzentration auf. Das Signifikanzniveau über den gesamten Untersuchungszeitraum betrug $p = 0,391$.

4 Diskussion

In der vorliegenden massenspektrometrischen Untersuchung über den mehrtägigen Einfluss standardisierter Umweltbedingungen auf die Konzentration der flüchtigen organischen Verbindungen Aceton, Isopren, Ammoniak, Ethanol und Acetaldehyd in der Alveolarluft gesunder Personen konnten statistisch relevante Veränderungen weder über den gesamten Untersuchungszeitraum, noch in den einzelnen Tagesverläufen festgestellt werden.

Die Analyse flüchtiger organischer Verbindungen in der menschlichen Ausatemluft birgt in sich ein großes diagnostisches Potential ohne dabei relevante Risiken zu beinhalten. Allerdings sind bislang auf dem Gebiet der Grundlagenforschung noch viele Fragen offen. Dazu gehört einerseits das Wissen um die Konzentration der verschiedenen Substanzen bei gesunden Personen, als auch das Ausmaß des Einflusses von Umgebung und Ernährung. In der vorliegenden Arbeit, als initiale Observationsstudie zur weiteren Hypothesenfindung konzipiert und initiiert, wurde erstmalig auf dem Forschungsgebiet der Atemgasanalyse eine Gruppe junger, gesunder Männer in einer arbeitsmedizinischen Einrichtung unter streng kontrollierten und homogenisierten Bedingungen über einen Zeitraum von fünf Tagen isoliert. An insgesamt fünf Messzeitpunkten wurden die flüchtigen organischen Verbindungen Aceton, Isopren, Ammoniak, Ethanol und Acetaldehyd mittels eines Massenspektrometers in der Alveolarluft bestimmt. Die an den Vormittagen der Untersuchungstage eins, drei und fünf bestimmten Konzentrationen repräsentierten strikt Nahrungs-karente Zustände, während die zusätzlich in den späten Nachmittagsstunden der Untersuchungstage eins und drei erhobenen Werte nicht-nüchterne Zustände widerspiegeln. Daraus resultiert zumindest eine direkte Vergleichbarkeit der vormittäglichen Werte.

Trotz der ausbleibenden statistischen Signifikanz der Unterschiede der einzelnen Messzeitpunkte zeigten die einzelnen flüchtigen organischen Verbindungen für sich voneinander deutlich unterscheidende Tendenzen auf. Die Konzentrationen von Isopren und Ammoniak erhöhten sich jeweils vom ersten zum dritten Vormittag hin, um am Vormittag des fünften Tages auf diesem jeweiligen Niveau zu stagnieren. Die Acetonkonzentration, aber auch die Konzentration von Acetaldehyd reduzierten sich diskret über den Verlauf der Vormittage. Das größte Ausmaß an Variabilität wurde für die Ethanolkonzentrationen im Untersuchungsverlauf gefunden.

4.1 Probanden, Ernährung und Umweltbedingungen

Die teilnehmenden Probanden stellten eine in sich sehr homogene Gruppe dar. Es handelte sich um eine Kohorte gesunder junger Männer ohne große Unterschiede bezüglich Alter, Gewicht und Größe. Bis auf einen Teilnehmer, welcher formal ein diskretes Übergewicht erreichte, galten alle Teilnehmer als normalgewichtig, und entsprachen somit weitgehend dem Durchschnitt der entsprechenden Altersgruppe der Normalbevölkerung [139, 140]. Festzustellen war allerdings, dass diese zahlenmäßig kleine, rein männliche Gruppe mit jener eng begrenzten Altersspanne somit nicht repräsentativ für die Allgemeinbevölkerung war. Über den gesamten Untersuchungszeitraum kam es zu einem zwar signifikanten, aber dennoch moderaten Gewichtsverlust. Nicht dokumentiert wurde, ob die Gewichtsbestimmung einheitlich in Bezug auf Miktion und Stuhlgang stattfand.

Die Zufuhr an alimentärer Energie mit im Mittel um die 2600 kcal/d entsprach zwar genau den Empfehlungen der Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V. für Männer dieser Altersgruppe im Rahmen einer vor allem sitzenden Tätigkeit ohne anstrengende Freizeitaktivitäten [141]. Auch das Ausmaß der täglichen Fettzufuhr entsprach diesen Empfehlungen [142]. Mit einem Anteil von 80 bis knapp 90 Gramm Protein pro Tag, bei zwei Teilnehmern sogar 100 Gramm Protein pro Tag wurden die entsprechende Empfehlungen allerdings um bis zu 50 Prozent übertroffen [143]. Die Ernährung mit Kohlenhydraten, Fett und Protein war über den gesamten Beobachtungszeitraum konstant. Die Aufnahme an Gesamtenergie über den Zeitraum der Untersuchung zeigte jedoch einen statistisch signifikanten Unterschied, bewegte sich aber dennoch in so engem Rahmen, dass weiterhin von standardisierten Bedingungen im Bereich der Ernährung der Teilnehmer ausgegangen werden kann.

Die AMSAN-Forschungseinrichtung ist eine geschlossene, von der Umgebung vollkommen separierte Einrichtung, welche allerdings von außen mit klimatisierter Frischluft versorgt wurde. Diese generierte Umwelt war an sich nicht neutral, sondern beinhaltete selbst ein relevantes Spektrum an flüchtigen organischen Verbindungen in variablen Konzentrationen, so auch von jenen untersuchten flüchtigen organischen Verbindungen.

Keine der untersuchten Verbindungen in der Raumluft zeigte über die Messzeitpunkte der Raumluftkonzentrationen gleichbleibende Konzentrationen auf. Alle untersuchten flüchtigen organischen Verbindungen zeichneten sich durch erhebliche Konzentrationsunterschiede über die gesamte Studiendauer aus. Isopren und Ammoniak zeigten sich als jene Verbindungen mit den niedrigsten gemessenen Konzentrationen innerhalb der Einrichtung mit gleichzeitig der geringsten Streubreite der Messwerte. Ethanol hingegen wies sowohl die höchste Raumluftkonzentration, als auch die größte Streubreite der Messwerte auf. Es konnten für Ethanol als auch für Acetaldehyd im Tagesverlauf statistisch bedeutsame Unterschiede nachgewiesen werden.

Boshier et al. untersuchten verschiedene VOCs in der Raumluft verschiedener Bereiche eines Krankenhauses, welche damit nur bedingt mit jener Umgebung, welcher die Probanden exponiert waren, vergleichbar war [144]. Neben relevanten Unterschieden der Raumluftkonzentrationen im Vergleich einzelner Teilbereiche eines Krankenhauses für beispielsweise Aceton, Ethanol und Ammoniak wurden dort für Ethanol und Ammoniak signifikante Veränderungen im Tagesverlauf beobachtet. Doch unterschieden sich die von Boshier et al. veröffentlichten absoluten Raumluftwerte erheblich von jenen innerhalb der Forschungseinrichtung bestimmten Konzentrationen. Die hier festgestellte Raumluftkonzentration für Ethanol bewegte sich zum Teil in vergleichbaren Größenordnungen und zeigte ebenfalls eine Signifikanz im Tagesverlauf auf. Ammoniak jedoch wies hingegen nur ein Bruchteil und Aceton eine erheblich höhere Konzentration im Vergleich zu den bekannten Daten auf. Isopren, welches in der Forschungseinrichtung sich relativ konstant in einem niedrigen Konzentrationsbereich bewegte, konnte im Umfeld eines Krankenhauses zu keinem Zeitpunkt in Bereichen über der Nachweisgrenze detektiert werden [144]. Turner beschrieb in zwei Untersuchungen Acetaldehyd als in der Raumluft eines klinischen Labors als nicht nachweisbar, wohingegen Hansel Acetaldehyd in normalen Räumen in jenen hier bestimmten Konzentrationsbereichen feststellen konnte [145-147].

4.2 Die Atemproben der Vormittage im Vergleich zu den Atemproben der Nachmittage

Die vormittägliche Atemprobe, welche unmittelbar nach dem Wecken der Teilnehmer gewonnen wurde, reflektiert eine Phase der Nüchternheit von 8,5 Stunden nach dem letzten Getränk des Vorabends als auch von körperlicher Ruhe bzw. Schlaf von knapp sieben Stunden. Die Abhängigkeit der Konzentrationen in der Ausatemluft von dem letzten Zeitpunkt der Nahrungsaufnahme wurde beispielsweise für Verbindungen wie Aceton, Ammoniak und Ethanol gezeigt [103]. Für Isopren wurde ein Zusammenhang zwischen den exhaliierten Konzentrationen und körperlicher Aktivität bzw. dem Wachheitsgrad erkannt [148]. Dementsprechend war eine Probe im Zustand der Nahrungskarenz und körperlichen Ruhe über einen definierten Zeitraum ein wichtiges Element im Rahmen der Standardisierung und relevantes Unterscheidungskriterium im Vergleich zu anderen Untersuchungen. Aus diesen Faktoren heraus resultierte eine gute Vergleichbarkeit dieser am Vormittag erhobenen Werte. Das einzige Unterscheidungsmerkmal dieser morgendlichen Proben war die zunehmende Dauer der Exposition der Probanden gegenüber den Umweltbedingungen der Isolation in der Forschungseinrichtung.

Die Probanden selbst bezogen die Einrichtung am Vorabend der ersten Probenabgabe und waren somit zum Zeitpunkt der ersten Atemprobe dieser Umwelt nur für mehrere Stunden ausgesetzt. Dementsprechend war die am ersten Tag der Untersuchung gewonnene Probe noch beeinflusst von den individuellen Lebensumständen und Gewohnheiten, wie zum Beispiel Ernährung, Umweltbelastungen an Wohnort oder Arbeitsplatz, Freizeit- und Konsumverhalten der einzelnen Teilnehmer der Untersuchung. Die am letzten Untersuchungstag bestimmten Werte spiegelten jedoch 108 Stunden Aufenthalt unter für alle Teilnehmer gleichen Bedingungen wieder.

Die am Nachmittag gewonnene Probe unterlag nicht der gleichen strikten Standardisierung wie jene am Morgen gewonnenen Proben. Der Zeitrahmen der Asservierung der Atemprobe über einem Zeitraum von zwei Stunden ist nicht exakt definiert. Diese Proben entsprachen keinem nüchternen Zustand, sondern wurden erhoben, nachdem die Teilnehmer bereits einen Großteil der täglichen Energie zu sich genommen hatten.

4.3 Die untersuchten flüchtigen Verbindungen in der Alveolarluft

Die Verbindung Isopren zeigte über die Messungen der Vormittage zum dritten Tag hin einen diskreten Konzentrationsanstieg, welcher im Fortgang der Untersuchung zum Vormittag des letzten Tages des Untersuchungszeitraums sich nicht wiederholte. In den beobachteten Tagesverläufen blieben die Konzentrationen nahezu konstant. Die wenigen bekannten Untersuchungen, welche ähnliche Bedingungen wie die der an den Vormittagen durchgeführten Messungen definierten, wie zumindest strikt intraalveolär und nüchtern, beschrieben Konzentrationen in der Ausatemluft von 212 ppbv [146], 99 bis 314 ppbv [105] und 174 ppbv [149]. Andere Berichte über exhalierte Konzentrationen von Isopren waren aufgrund teils anderer Analysatvolumina, ungenau definierter Zeitpunkte der Probenabgabe, gemischtgeschlechtlicher Probandengruppen mit anderen einbezogenen Altersgruppen und divergierender Ernährungszustände und anderen Umständen zwar weniger gut vergleichbar, doch diese Werte reichten von 54 ppbv [108], 55 ppbv bis 121 ppbv [150], 83 ppbv [151], 100 ppbv [111] bis zu 118 ppbv [152] und lagen damit genau in der Größenordnung der hier bestimmten Werte. Einige Autoren berichteten im Zusammenhang mit Isopren über eine gewisse zirkadiane Rhythmik mit einem Maximum in den frühen Morgenstunden bzw. kurz vor dem Erwachen [105, 153]. Eine Erklärung für die hier fehlende Variation im Tagesverlauf könnte sich darin finden, dass die Atemproben erst nach mindestens 20 Minuten nachdem Erwachen genommen wurden und somit jener Maximalwert nicht erfasst wurde, da diese erhöhten Isoprenwerte bereits in einem Zeitraum von wenigen Minuten nach der Aufwachreaktion relevant abfielen. Dies scheint die Annahme von Cailleux zu bestätigen, dass die Konzentrationen von Isopren in der Atemluft nicht einer zirkadianen Rhythmik entsprechen, sondern abhängig vom Wachheitsgrad sind [148].

Die Verbindungen Ethanol und Acetaldehyd sind metabolisch zum Teil eng miteinander verknüpft [123, 124]. Die Ethanolkonzentrationen in den morgendlichen Messungen zeigten deutliche Unterschiede ohne eine erkennbare Tendenz. Der Konzentrationsabfall in den Messungen an den Nachmittagen des ersten und dritten Tages deckte sich nicht mit den Erkenntnissen von Smith, welche nach Nahrungsaufnahme initial einen Anstieg erwarten lassen würden, obwohl diese Messungen im Zeitraum von ein bis drei Stunden nach einer Zwischenmahlzeit durchgeführt wurden [103]. Trotz des ausbleibenden Anstiegs nach Nahrungsaufnahme entsprachen diese Konzentrationen aber gut den in der

Literatur bekannten Werten für nicht nahrungskarente Personen von 100 bis 200 ppbv [145, 154].

Bekannte Ethanolkonzentrationen endogenen Ursprungs in der Ausatemluft im nüchternen Zustand reichten von ca. 10 ppbv bis hin zu 50 bis 100 ppbv und sind damit bedeutsam unter den hier beobachteten Konzentrationen der Messungen am Vormittag [103, 155].

Die Konzentration der flüchtigen organischen Verbindung Acetaldehyd hingegen reduzierte sich im Verlauf der drei Messungen am Vormittag zwar nicht signifikant, aber stetig. Diese festgestellten Konzentrationen von Acetaldehyd divergierten deutlich von anderen veröffentlichten Daten, welche im Allgemeinen von zwei bis fünf ppbv bis zu mittleren Konzentrationen zwischen 24 ppbv und 40 ppbv reichten [119, 150, 156].

Somit lagen die in dieser Untersuchung festgestellten Konzentrationen im Kontext einer nächtlichen Nahrungskarenz für Ethanol und Acetaldehyd deutlich über bekannten Vergleichswerten. Zwar ist ein Zusammenhang zwischen den Konzentrationen von Ethanol und Acetaldehyd in der Ausatemluft nach exogener Zufuhr von Ethanol bekannt, so galt dies nicht ohne eine alimentäre Aufnahme von Ethanol [145, 157]. Diese beiden Untersuchungen beschrieben ebenfalls ein deutlich geringeres Verhältnis von Acetaldehyd und Ethanol in der Atemluft in der Größenordnung von ein bis 10 Prozent, welches in dieser Untersuchung nicht bestätigt werden konnte [119, 157]. Aus den Erfahrungen der eigenen Arbeitsgruppe heraus, war jedoch bekannt, dass bei Verwendung des auch hier eingesetzten Massenspektrometers wiederholt Acetaldehydkonzentrationen bestimmt wurden, welche deutlich über bekannten Vergleichsdaten lagen. Aus diesen verfahrenstechnischen Gründen heraus, welche aber wohl einen Konzentrationsverlauf zuverlässig abbildeten, sollten zumindest die absoluten Konzentrationen der Verbindungen Acetaldehyd kritisch betrachtet werden.

Für Ethanol wurden in der Raumluft Konzentrationen bestimmt, welche vormittags jenen Konzentrationen, welche in der Ausatemluft bestimmt wurden, entsprachen. Es konnte ein statistisch signifikanter Unterschied im Tagesverlauf der Raumluft-Konzentrationen im Sinne eines Rückgangs gezeigt werden, wodurch die Reduktion der Konzentrationen in den beiden Messungen an den Nachmittagen des ersten und dritten Tages wohl teilweise erklärt werden konnte. Auch die Konzentrationen von Acetaldehyd in der Umgebungsluft wiesen einen statistisch signifikanten Rückgang im Tagesverlauf auf,

lagen aber ebenfalls vormittags in der Größenordnung der Alveolarluftkonzentration. Dies deckt sich mit den Erkenntnissen von Španěl et al., welche einen direkten Zusammenhang zwischen inhalierten, also den in der Raumlauft herrschenden und exhalieren Konzentrationen verschiedener flüchtiger organischer Verbindungen aufzeigten [158]. Zusammenfassend konnte für Ethanol und Acetaldehyd, welche sich somit teils deutlich zu bekannten Daten unterschieden, eine relevante Beeinflussung durch die in der Umgebung der Einrichtung vorherrschenden Konzentrationen postuliert werden.

Die Alveolarluftkonzentration des Ketonkörpers Aceton zeigte am dritten Untersuchungstag eine relevante Reduktion innerhalb der Vormittagsmessungen. Am nüchternen gesunden Probanden wurden in der relevanten Vergleichsliteratur über Werte im Bereich 200 ppbv bis zu 1300 ppbv berichtet, welche damit erheblich über die in dieser Untersuchung bestimmten Konzentrationen lagen [103, 146, 159]. King et al. zeigten in einer kleinen Gruppe abendliche Konzentrationen im Bereich von 234 ppbv bis 580 ppbv, welche über Nacht anstiegen und ca. zwei Stunden vor dem Erwachen Werte von 575 ppbv bis 1469 ppbv erreichten [105]. Die Messungen an den Nachmittagen zeigten nach mehrfacher Nahrungsaufnahme im Tagesverlauf keinen weiteren Abfall der bereits niedrigen Aceton-Konzentrationen, sondern am ersten Tag sogar einen diskreten Anstieg. Dies widerspricht sowohl den Ergebnissen der Arbeitsgruppe um Smith welche einen relevanten Abfall der Aceton-Werte nach der Zufuhr von Kalorien zeigte, als auch den von Turner et al. bestimmten Konzentrationen, welcher im Rahmen einer Langzeituntersuchung deutlich höhere Werte an nicht fastenden Personen beschrieb [103, 160]. Unklar ist die Kausalität dieser vergleichsweise niedrigen Konzentrationen und ihrer spezifischen Verläufe in dieser Untersuchung. In Betracht können verschieden Faktoren gezogen werden, beispielsweise eine Instabilität des Acetonmoleküls im Rahmen der Lagerung der gewonnenen Atemproben unter Minusgrade und ihrer folgenden Wiedererwärmung. Dagegen spricht die Tatsache, dass die gesicherten Raumlufthproben im Verlauf dem gleichen analytischen Procedere, wie Lagerung, zeitversetzte Wiedererwärmung und Analyse, unterzogen wurden. Nicht auszuschließen ist aber auch ein bislang unklarer Einfluss der definierten Studienbedingungen oder eine reine Zufälligkeit bei dieser kleinen homogenen Probandengruppe. Die Zufuhr an Energie durch die standardisierte Diät entsprach den allgemein gültigen Empfehlung der

Fachgesellschaften, wobei allerdings die initiale signifikante Gewichtsreduktion innerhalb der Gruppe auffiel. Somit konnte zumindest eine exzessive Energiezufuhr als Ursache für die niedrigen Werte ausgeschlossen werden. Die Konzentrationen von Aceton in der Raumluft entsprach ebenfalls in Teilen jenen in der Alveolarluft, aufgrund dessen auch bei dieser Verbindung, zumindest im Kontext des ausbleibenden Abfalls der Konzentrationen am Nachmittag auf einem bedeutsamen Einfluss der Umwelt auf die Konzentrationen in der Alveolarluft geschlossen werden konnte.

Ammoniak zeigte in dieser Untersuchung eine Abhängigkeit zur Nahrungsaufnahme. Die vormittäglichen Werte in dieser Untersuchung, also im nüchternen Zustand gewonnen, erhöhten sich initial um circa 30 Prozent und stabilisierten sich im Verlauf in dieser Größenordnung. Die Werte der beiden Nachmittagsmessungen zeigten jeweils einen deutlichen Anstieg. An Tag eins um fast den Faktor drei, an Tag drei noch um knapp 40 Prozent. Diese Werte wurden nach mehrfacher Nahrungsaufnahme im Tagesverlauf bestimmt. Die Probanden hatten bis zum Nachmittag Frühstück und Mittagessen, als auch zwei kleine Zwischenmahlzeiten zu sich genommen. Dieses Verhalten der Ammoniakkonzentration nach Nahrungszufuhr deckt sich im Wesentlichen mit den Erkenntnissen von Smith, welcher eine Verdoppelung bzw. Verdreifachung der exhalieren Ammoniakkonzentrationen einige Stunden nach Zufuhr von ca. 30 bis 40 g Protein zeigte [103]. Allerdings unterscheiden sich die hier bestimmten Werte deutlich von den absoluten Konzentrationen, welche andere Arbeitsgruppen feststellen konnten. Smith et al. zeigten Nüchternheitswerte in der Größenordnung von 300 bis 600 ppbv und Turner et al. eine mittlere Konzentration von 833 ppbv [103, 146]. Diese Konzentrationen sind mit den hier erhobenen gut zu vergleichen, da zumindest in diesen beiden Untersuchungen in wichtigen Teilaspekten ähnliche Bedingungen definiert wurden. Es wurde eine strikte Nahrungskarenz von 12 Stunden eingehalten, ein fast rein männliches Kollektiv untersucht und die Werte im endtidalen Anteil der Ausatemluft bestimmt. Andere im Vorfeld veröffentlichte exhalieren Konzentrationen wie bzw. 317 ppbv durch Spânel [154], 290 ppbv durch Hibbard [114] oder sogar Werte bis zu 842 ppbv durch Turner [160] sind dahingegen zum Teil in nicht-nüchternen Zuständen, an gemischtgeschlechtlichen Gruppen, welche große Altersspannen einbezogen oder an Atemproben, welche nicht rein intraalveolären Ursprungs waren, bestimmt worden. Diese relevanten Unterschiede der bestimmten Konzentrationen waren ursächlich unklar, da die

Alimentation mit Proteinen den empfohlenen Tagesbedarf der Teilnehmer übertraf. Smith et al. berichteten allerdings über einen initialen Abfall der abgeatmeten Ammoniak-Konzentration nach Nahrungsaufnahme, womöglich bedingt durch einen vermehrten postprandialen portalen Blutfluss [103]. Der im Vergleich zum Teil verringerte Anstieg der hier bestimmten Werte könnte also durch die Nahrungsaufnahme im Rahmen der Zwischenmahlzeit am Nachmittag und somit relativ zeitnah vor der nachmittäglichen Messung verursacht sein. Die herrschenden Umgebungsluftkonzentrationen zeigten sich relativ stabil und blieben mit im Mittel 17 ppbv in einem Dimensionsbereich, welcher zumindest eine relevante Einflussnahme auf die exhaliierten Konzentrationen weitgehend ausschloss.

4.4 Die Korrektur der „Background“- Konzentration

Die in der humanen Ausatemluft erscheinenden flüchtigen organischen Verbindungen kommen häufig in relevantem Ausmaß in der Umgebungsluft, welcher der Organismus exponiert ist, vor [161]. Bekannt ist, dass dadurch die zum Zeitpunkt der Sicherstellung einer Alveolarluftprobe herrschenden Umgebungskonzentrationen, welche im Sprachgebrauch der Atemgasanalytik als jene Backgroundkonzentration bezeichnet wird, die exhaliierten Werte bedeutsam beeinflusst werden [158]. Auch in dieser Untersuchung waren alle flüchtigen organischen Verbindungen, welche in der Alveolarluft bestimmt wurden, in unterschiedlichem Ausmaß in der Umgebung zu finden. Um diesem Faktor Rechnung zu tragen und eine mögliche Verfälschung erhobener Resultate zu reduzieren, als auch grundsätzlich zwischen endogenem bzw. exogenem Ursprung einer Substanz zu differenzieren postulieren viele Autoren die Notwendigkeit einer Korrektur der Messwerte in der Ausatemluft durch die Konzentrationen in der Umgebungsluft [80, 91, 128, 162, 163].

Eine beschriebene Möglichkeit ist, präanalytisch synthetische Luft, welche frei von flüchtigen organischen Verbindungen ist, zu atmen. Die Alternative dazu ist die Bildung eines sogenannten alveolären Gradienten durch Subtraktion der Konzentration einer flüchtigen Verbindung in der Umgebungsluft, somit der Inspirationsluft von der gemessenen Konzentration in der Ausatemluft.

Die Atmung synthetischer Luft vor Bestimmung der Konzentration in der Ausatemluft unterliegt einigen Schwierigkeiten. Zuerst stellt sich die Frage, wie lange die sogenannte Auswaschphase der Lunge, also das Atmen synthetischer Luft nötig ist, damit die dann gemessenen Konzentrationen den endogenen Konzentrationen entsprechen. Berichtet Risby noch 1999 von einem Zeitraum von bis zu 30 Minuten, so widersprechen andere Autoren und vermuten einen deutlich höheren Zeitbedarf. Sogar Risby äußerte in einer Veröffentlichung aus dem Jahre 2008 nun mögliche Zeiträume von Tagen bis zu Wochen [120, 144, 163]. Auch gibt es Hinweise darauf, dass selbst hochqualitative, kommerziell erhältliche synthetische Luft mit einer Vielzahl von flüchtigen organischen Verbindungen im picomolaren Konzentrationsbereich kontaminiert ist [95, 163, 164]. Neben diesen methodischen Schwächen erscheint dieses Procedere hinsichtlich des Aufwandes, als auch der Kosten im klinischen Alltags auch kaum praktikabel [165].

Ein zweiter Weg besteht darin, durch die Bildung eines sogenannten alveolären Gradienten die exhaliierten Konzentrationen in Bezug zu den Umgebungskonzentrationen zu setzen.

Dies geschieht durch die Subtraktion jener in der Umgebungsluft vorherrschenden Konzentration von der in Ausatemluft gemessenen Konzentration. Sind die erhobenen Werte positiv, so geht man von einer endogenen Produktion aus, sind diese negativ, wird dementsprechend eine pulmonale Aufnahme aus der Umgebung postuliert [95, 162, 163, 166]. Auch dieses Procedere ist mit erheblichen methodischen Mängeln assoziiert.

Erstens setzt es ebenfalls ein Äquilibrium mit der Raumluft voraus [80, 166]. Wird zwar die notwendige Zeit zum Auswaschen der Lunge wie oben beschrieben als relativ kurz eingeschätzt, so wird allerdings die Auswaschzeit des gesamten Körpers, also die Zeit bis zum Erreichen eines Äquilibriums der Körperkompartimente unter Umständen als Tage bis sogar Wochen dauernd eingeschätzt [161]. In einer Untersuchung an intubierten und beatmeten Patienten zeigten Schubert et al., dass bereits ab inspiratorischen Konzentrationen von über 5 % der jeweilig gemessenen exhaliierten Werte, eine einfache Subtraktion nicht ausreicht, um den komplexen zugrundeliegenden Mechanismen zu entsprechen [167]. Pleil vertritt die Meinung, dass eine schlichte Subtraktion ebenfalls nicht ausreichend ist, da es einer möglichen vorausgegangen Exposition nicht Rechnung trägt [168]. Boots und Kollegen verweisen darauf, dass grundsätzlich eine Subtraktionsmethode zur Korrektur äußerer Einflüsse keineswegs den komplexen

zugrundeliegenden Mechanismen Rechnung trägt, sondern sogar zu falschen statistischen Signifikanzen führen können, weswegen eine Korrektur der Umweltkonzentrationen weitestgehend nicht nötig ist [169, 170].

Ein praktikabler Ansatz scheint die Empfehlung von Risby et al. zu sein, parallel zur Atemprobe eine Probe der Umgebungsluft zu sichern. Überschreitet die Konzentration einer flüchtigen organischen Verbindung in der Raumluft einen Anteil von 25 Prozent der in der Ausatemluft gemessenen so wird empfohlen, diese Werte kritisch zu betrachten [161].

Dieser Sachverhalt scheint sich in dieser Untersuchung zu bestätigen. VOCs, welche hier in der Ausatemluft im Vergleich zu bekannten Vergleichsdaten als relevant erhöht erschienen, sind waren auch mit erhöhten Konzentrationen in der Umgebungsluft vergesellschaftet. Dies ist eindeutig als Hinweis zu werten, welche Rolle die Konzentrationen in der Umgebungsluft spielen. Die untersuchten flüchtigen organischen Verbindungen zeigten sich in der Umgebungsluft stark schwankend, so dass eine Korrektur durch eine singuläre Raumluftmessung nicht zweckmäßig erschien. Zusammenfassend war also festzustellen, dass lediglich die exhaliierten Konzentrationen der Verbindungen Ammoniak und Isopren wohl nicht nennenswert durch exogene Raumluftkonzentrationen beeinflusst waren.

4.5 Einschränkung dieser Untersuchung

Die Interpretation der in dieser Untersuchung gewonnen Daten wurde durch einige Aspekte erschwert:

Der Ablauf der Untersuchung fand nicht für alle Teilnehmer gleich statt, sondern jeweils eine Gruppe von zwei Teilnehmern wurde um einen Tag zeitversetzt in die Einrichtung aufgenommen. Dadurch wurde insbesondere die Bewertung des Einflusses der Raumluftkonzentrationen beeinträchtigt.

Die statistische Aussagekraft der gewonnenen Erkenntnisse ist sicherlich durch die relativ kleine Anzahl an Teilnehmern, insbesondere im Kontext der zu bestimmten Messzeitpunkten aufgrund des fraglichen intraalveolären Ursprungs ausgeschlossenen Proben mit Bedacht zu interpretieren.

Das beschriebene Procedere der Gewinnung der Atemproben unter Verwendung einfacher Materialien wie Getränkestrohalme und gängiger Glasbehälter die im Anschluss der Probengewinnung manuell verschlossen werden mussten, scheint auf dem Gebiet der Atemgasanalyse, welche einen hohen technischen Anspruch hinsichtlich der analytischen Genauigkeit erfordert, ein sehr einfaches und preiswertes Verfahren darzustellen. Die verwendete Methode wurde jedoch bereits von anderen Arbeitsgruppen angewandt und stellt somit ein etabliertes Verfahren dar [61, 131, 132, 171]. Da die Proben nicht unmittelbar zum Zeitpunkt der Abgabe vor Ort untersucht werden konnten, wurden fehlerhaft abgenommene Proben nicht sofort erkannt. Durch die zeitversetzte massenspektrometrische Analyse allerdings konnten Atemluftproben mit nicht ausreichender Qualität, im Sinne eines gesicherten intraalveolären Ursprungs, erst im Nachhinein über ihren entsprechenden Gehalt an Kohlendioxid identifiziert werden. Somit mussten Proben, welche diesen analytischen Kriterien nicht entsprachen, im Verlauf aus der Analyse ausgeschlossen werden.

Auch liegen keine aufschlussreichen Informationen über den Einfluss der Lagerung der Atemproben unter Tiefsttemperaturen in den verwendeten Glasbehältern mit konsekutiver zeitversetzter Analyse vor. Miekisch und Kollegen zeigten, dass die Lagerung von Atemluftproben in bestimmten Plastikbehältern bei normaler Raumlufttemperatur relevante Veränderung der Konzentration einiger ausgesuchter flüchtiger organischer Verbindungen zu Folge haben konnte [172]. Eine andere Untersuchung zeigte hingegen bei vom Menschen gewonnenen Atemproben, welche zwar unter Tiefsttemperaturen gelagert wurden, allerdings in einem speziellen Absorbermaterial gebunden waren, eine über mehrere Wochen anhaltende akzeptable Stabilität an [173]. Eine eigene, nicht veröffentlichte Untersuchung der Firma V&F über die Lagerungsfähigkeit von Atemproben, welche analog dem hier verwandten Vorgehen gewonnen und aufbewahrt wurden, ergab Hinweise auf eine ausreichende Stabilität der enthaltenen VOCs bis zu einem Zeitrahmen von sechs Monaten.

4.6 Die Vergleichbarkeit mit anderen Studien

Ein grundsätzliches Problem der Forschung auf dem Gebiet der Atemgasanalyse ist bislang eine fehlende Standardisierung der Methoden, welche eine Vergleichbarkeit der erhobenen Werte erschweren [22, 35, 161]. In einigen Untersuchungen existieren gemischt-geschlechtliche Gruppen [103, 145, 154], andere untersuchen ein rein männliches Kollektiv [146]. Die einbezogene Altersspanne als auch der Bereich des BMI der Probanden ist teilweise sehr groß, beispielsweise in einer Untersuchung von 24 bis 59 Jahren, bzw. von 18,4 bis 30,6 kg/m² reichend [119]. In anderen Berichten ist in keiner Weise der Grad der Nüchternheit definiert [119, 150, 154, 170], während einige Untersuchungen die Messwerte nach einer längeren Phase der strikten Nahrungskarenz bestimmen [103, 146]. Verschiedene Autoren beziehen sich auf strikt endtidale Konzentrationen [44, 103, 119, 160], wohingegen andere das gesamte Exhalationsvolumen, einschließlich des Volumens welches dem anatomischen Totraum entstammt einer Analyse zuführten. [114, 170]

Weiterhin wurden oft Raucher, Nichtraucher bzw. Ex-Raucher gemeinsam untersucht bzw. ein Nichtraucherstatus zwingend vorgeschrieben [154, 156].

5 Zusammenfassung und Ausblick

In der vorliegenden Arbeit wurde eine kleine homogene Gruppe junger Männer unter gleichgeschalteten Umweltbedingungen, wie insbesondere Schlaf- und Wachheitsphasen und Art und Zeitpunkt der Ernährung in einer speziellen Forschungseinrichtung isoliert. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, den Einfluss der standardisierten Umwelt auf die Konzentrationen der flüchtigen organischen Verbindungen Aceton, Isopren, Ammoniak, Ethanol und Acetaldehyd in der Alveolarluft der Teilnehmer unter Verwendung der Technik der Massenspektrometrie zu bestimmen. Soweit bekannt, war dieser besondere Aufbau der Untersuchung ein Novum auf dem Gebiet der Atemgasanalyse. An den Untersuchungstagen eins, drei und fünf wurden unter streng definierten Bedingungen vormittags die Konzentrationen bestimmt, welche durch zusätzliche Proben an den Nachmittagen der Untersuchungstage eins und drei ergänzt wurden.

Die Proben wurden unter reproduzierbaren Bedingungen gewonnen und waren endtidal und somit intraalveolär als Surrogat für die korrespondierenden gemischtvenösen Konzentrationen der untersuchten flüchtigen organischen Verbindungen.

Für keine der untersuchten flüchtigen organischen Verbindungen konnte eine statistisch signifikante Veränderung ihrer Konzentrationen über den Untersuchungszeitraum gezeigt werden. Durch den Vergleich mit in der Literatur bereits bekannten Daten konnte jedoch auf einen Effekt des Studienaufbaus im Sinne eines Einflusses auf die absoluten Konzentrationen geschlossen werden. Die Verbindungen Ethanol, Acetaldehyd und Aceton wurden möglicherweise durch die in der Umgebungsluft herrschenden Konzentration beeinflusst.

Im Kontext der beschriebenen methodischen Einschränkung dieser Untersuchung lassen sich hieraus jedoch Hinweise ableiten, dass nicht nur die Kenntnis der zum Zeitpunkt der Probenabgabe herrschenden Umgebungsluftkonzentrationen der zu untersuchenden VOCs, sondern auch das Wissen um vorausgegangenen Expositionen und der individuellen Lebensweise durchaus die rationale Bewertung der untersuchten VOCs als mögliches Diagnostikum erleichtern könnten. Inwiefern eine Anwendung der Atemgasanalyse als Mittel der Diagnosefindung im medizinischen Kontext am individuellen Patienten letztlich möglich ist, bleibt somit ein weites Feld für weitere Untersuchungen.

Literaturverzeichnis

1. Manolis, A., *The diagnostic potential of breath analysis*. Clin Chem, 1983. **29**(1): p. 5-15.
2. Hempelmann, G., H.A. Adams, and P. Seifrin, *Notfallmedizin*. 1999, Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
3. Risby, T.H. and S.F. Solga, *Current status of clinical breath analysis*. Applied Physics B, 2006. **85**(2): p. 421-6.
4. Anstie, F., *Final experiments on the elimination of alcohol from the lung*. Practitioner, 1874. **13**: p. 15-28.
5. Cushny, A.R., *On the exhalation of drugs by the lungs*. J Physiol, 1910. **40**(1-2): p. 17-27.
6. Dodds, E. and I. Bennett, *Variations of alveolar carbon dioxide pressure in relation to meals: a further study*. J Physiol, 1921. **55**(5-6): p. 381-8.
7. Dodds, E.C., *A new method of investigating gastrointestinal secretion*. Lancet, 1921. **198**(5116): p. 605-606.
8. Hunter, J.A., R.W. Stacy, and F.A. Hitchcock, *A mass spectrometer for continuous gas analysis*. Rev Sci Instrum, 1949. **20**(5): p. 333-6.
9. Mlynek, L. and H. Valentin, *Massenspektrometrie in der medizinischen Gasanalyse*. Elektromedizin 1964. **9**(3): p. 146-51.
10. Muysers, K., F. Siehoff, and G. Worth, *Anwendungsmöglichkeiten der Massenspektrometrie in der Lungenfunktionsdiagnostik*. Klin Wochenschr, 1960. **38**(10): p. 490-4.
11. Jansson, B.O. and B.T. Larsson, *Analysis of organic compounds in human breath by gas chromatography-mass spectrometry*. J Lab Clin Med, 1969. **74**(6): p. 961-6.
12. Pauling, L., et al., *Quantitative analysis of urine vapor and breath by gas-liquid partition chromatography*. Proceedings of the National Academy of Science U S A, 1971. **68**(10): p. 2374-6.
13. Conkle, J.P., B.J. Camp, and B.E. Welch, *Trace composition of human respiratory gas*. Arch Environ Health, 1975. **30**(6): p. 290-5.
14. Teranishi, R., et al., *Gas chromatography of volatiles from breath and urine*. Anal Chem, 1972. **44**(1): p. 18-20.
15. Tassopoulos, C.N., D. Barnett, and T.R. Fraser, *Breath-acetone and blood-sugar measurements in diabetes*. Lancet, 1969. **1**(7609): p. 1282-6.
16. Rooth, G. and S. Ostenson, *Acetone in alveolar air, and the control of diabetes*. Lancet, 1966. **2**(7473): p. 1102-5.
17. Chen, S., L. Zieve, and V. Mahadevan, *Mercaptans and dimethyl sulfide in the breath of patients with cirrhosis of the liver. Effect of feeding methionine*. J Lab Clin Med, 1970. **75**(4): p. 628-35.
18. Bond, J.H., Jr., R.R. Engel, and M.D. Levitt, *Factors influencing pulmonary methane excretion in man. An indirect method of studying the in situ metabolism of the methane-producing colonic bacteria*. J Exp Med, 1971. **133**(3): p. 572-88.
19. Dubowski, K., *Breath Analysis as a technique in clinical chemistry*. Clin Chem, 1974. **20**(8): p. 966-72.
20. Wilson, K., *Breath analysis. Physiological basis and sampling techniques*. Scand J of Work Environ Health 1986. **12**(3): p. 174-92.
21. Wilson, H.K. and A.C. Monster, *New technologies in the use of exhaled breath analysis for biological monitoring*. Occup Environ Med, 1999. **56**(11): p. 753-7.
22. Lourenco, C. and C. Turner, *Breath analysis in disease diagnosis: methodological considerations and applications*. Metabolites, 2014. **4**(2): p. 465-98.
23. Timmermann, A., et al., *Kohlenstoffdioxidmessung in der Notfallmedizin*. Anaesthesist, 2012. **61**(2): p. 148-55.
24. Siobal, M., *Monitoring Exhaled Carbon Dioxide*. Respir Care, 2016. **61**(10): p. 1397-416.

25. A., S., D. Elich, and W. Heinrichs, *Kontinuierlicher expiratorischer Alkoholnachweis*. Der Anaesthetist, 1995. **44**(6): p. 436-41.
26. Jachau, K. and F. Musshoff, *Beweissichere" Atemalkoholanalytik in Deutschland*. Rechtsmedizin, 2009. **19**: p. 445-54.
27. Hlastala, M.P., *The alcohol breath test--a review*. J Appl Physiol (1985), 1998. **84**(2): p. 401-8.
28. Sandrini, A., et al., *Fractional exhaled nitric oxide in asthma: an update*. Respirology, 2010. **15**(1): p. 57-70.
29. Newman, A., *Breath-analysis tests in gastroenterology*. Gut, 1974. **15**(4): p. 308-23.
30. Modak, A.S., *Single time point diagnostic breath test: a review*. J Breath Res, 2010.
31. Braden, B., *Methods and functions: Breath tests*. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2009. **23**(3): p. 337-52.
32. Gordon, S.M., et al., *Volatile organic compounds in exhaled air from patients with lung cancer*. Clin Chem, 1985. **31**(8): p. 1278-82.
33. Bajtarevic, A., et al., *Noninvasive detection of lung cancer by analysis of exhaled breath*. BMC Cancer, 2009. **9**(348): p. 348.
34. Phillips, M., et al., *Volatile organic compounds in breath as marker of lung cancer: a cross-sectional study*. Lancet, 1999. **353**(9168): p. 1930-3.
35. Hakim, M., et al., *Volatile organic compounds of lung cancer and possible biochemical pathways*. Chem Rev, 2012. **112**(11): p. 5949-66.
36. Phillips, M., et al., *Detection of lung cancer using weighted digital analysis of breath biomarkers*. Clin Chim Acta, 2008. **393**(2): p. 76-84.
37. Phillips, M., et al., *Prediction breast cancer using volatile biomarkers in the breath*. Breast Cancer Res and Treat, 2006. **99**(1): p. 19-21.
38. Schmutzhard, J., et al., *Pilot study: volatile organic compounds as a diagnostic marker for head and neck tumors*. Head Neck, 2008. **30**(6): p. 743-9.
39. Phillips, M., et al., *Heart allograft rejection: detection with breath alkanes in low levels (the HARDBALL study)*. J Heart Lung Transplant, 2004. **23**(6): p. 701-8.
40. Van Muylem, A., C. Knoop, and M. Estenne, *Early detection of chronic pulmonary allograft dysfunction by exhaled biomarkers*. Am J Respir Crit Care Med, 2007. **175**(7): p. 731-6.
41. Silkoff, P.E., et al., *Exhaled nitric oxide in human lung transplanation. A noninvasive marker of acute Rejection*. Am J Respir Crit Care Med, 1998. **157**(6 Pt 1): p. 1822-8.
42. Verleden, G.M., L.J. Dupont, and D.E. Van Raemdonck, *Accuracy of exhaled nitric oxid measurements for the diagnosis of bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation*. Transplantation, 2004. **78**(5): p. 730-3.
43. Studer, S.M., et al., *Patterns and significance of exhaled-breath biomarkers in lung transplant recipients with acute allograft rejection*. J Heart Lung Transplant, 2001. **20**(11): p. 1158-66.
44. Bennet, L., et al., *A chemometric study on human breath mass spectra for biomarker identification in cystic fibrosis*. J Breath Res, 2009. **3**(4): p. 046002.
45. Dallinga, J.W., et al., *Volatile organic compounds in exhaled breath as a diagnostic tool for asthma in children*. Clin Exp Allergy, 2009. **40**(1): p. 68-76.
46. Van Berkel, J.J., et al., *A profile of volatile organic compounds in breath discriminates COPD patients from controls*. Respir Med, 2010. **104**(4): p. 557-63.
47. Cristescu, S.M., et al., *Screening for emphysema via exhaled volatile organic compounds*. J Breath Res, 2011. **5**(4): p. 046009.
48. de Gennaro, G., et al., *Chemical characterization of exhaled breath to differentiate between patients with malignant plueral mesothelioma from subjects with similar professional asbestos exposure*. Anal Bioanal Chem, 2010. **389**(7-8): p. 3043-50.
49. Bos, L., M.J. Schultz, and P.J. Sterk, *Exhaled breath profiling for diagnosing acute respiratory distress syndrome*. BMC Pulm Med, 2014. **14**: p. 72.

50. Kharitonov, S.A., D.H. Yates, and P.J. Barnes, *Increased nitric oxide in exhaled air of normal human subjects with upper respiratory tract infections*. Eur Respir J, 1995. **8**(2): p. 295-7.
51. Phillips, M., et al., *Volatile biomarkers of pulmonary tuberculosis in the breath*. Tuberculosis (Edinb), 2007. **87**(1): p. 44-52.
52. Cheepsattayakorn, A. and R. Cheepsattayakorn, *Breath tests in respiratory and critical care medicine: from research to practice in current perspectives*. Biomed Res Int, 2013. **2013**: p. 702896.
53. Kanoh, S., H. Kobayashi, and K. Motoyoshi, *Exhaled ethane: an in vivo biomarker of lipid peroxidation in interstitial lung diseases*. Chest, 2005. **128**(4): p. 2387-92.
54. Babusikova, E., et al., *Exhaled carbon monoxide as a new marker of respiratory diseases in children*. J Physiol Pharmacol, 2008. **59 Suppl 6**: p. 9-17.
55. Chen, S., V. Mahadevan, and L. Zieve, *Volatile fatty acids in the breath of patients with cirrhosis of the liver*. J Lab Clin Med, 1970. **75**(4): p. 622-7.
56. Shimamoto, C., I. Hirata, and K. Katsu, *Breath and blood ammonia in liver cirrhosis*. Hepatogastroenterology, 2000. **47**(32): p. 443-5.
57. Dadamio, J., et al., *Breath biomarkers of liver cirrhosis*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2012. **905**: p. 17-22.
58. DuBois, S., et al., *Breath ammonia testing for diagnosis of hepatic encephalopathy*. Dig Dis Sci, 2005. **50**(10): p. 1780-4.
59. Hanouneh, I.A., et al., *The breathprints in patients with liver disease identify novel breath biomarkers in alcoholic hepatitis*. Clin Gastroenterol Hepatol, 2014. **12**(3): p. 516-23.
60. Alkhouri, N., et al., *Analysis of breath volatile organic compounds as a noninvasive tool to diagnose nonalcoholic fatty liver disease in children*. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2014. **26**(1): p. 82-7.
61. Netzer, M., et al., *A new ensemble-based algorithm for identifying breath gas marker candidates in liver disease using ion molecule reaction mass spectrometry*. Bioinformatics, 2009. **25**(7): p. 941-7.
62. Rolla, G., et al., *Breath analysis in patients with end-stage renal disease: effect of haemodialysis*. Eur J Clin Invest, 2008. **38**(10): p. 728-33.
63. Kohl, I., et al., *First observation of a potential non-invasive breath gas biomarker for kidney function*. J Breath Res, 2013. **7**(1): p. 017110.
64. Meinardi, S., et al., *Exhaled breath and fecal volatile organic biomarkers of chronic kidney disease*. Biochim Biophys Acta, 2013. **1830**(3): p. 2531-7.
65. Yokokawa, T., et al., *Exhaled Acetone Concentration Is Related to Hemodynamic Severity in Patients With Non-Ischemic Chronic Heart Failure*. Circulation Journal, 2016. **80**(5): p. 1178-86.
66. Kupari, M., et al., *Breath acetone in congestive heart failure*. Am J Cardiol, 1995. **76**(14): p. 1076-8.
67. Mendis, S., P.A. Sobotka, and D.E. Euler, *Expired hydrocarbons in patients with acute myocardial infarction*. Free Radic Res, 1995. **23**(2): p. 117-22.
68. Weitz, Z.W., et al., *High breath pentane concentrations during acute myocardial infarction*. Lancet, 1991. **337**(8747): p. 933-5.
69. Cikach, F.S., Jr., et al., *Breath analysis in pulmonary arterial hypertension*. Chest, 2014. **145**(3): p. 551-8.
70. Phillips, M., et al., *Volatile organic compounds in the breath of patients with schizophrenia*. J Clin Pathol, 1995. **48**(5): p. 466-9.
71. Phillips, M., M. Sabas, and J. Greenberg, *Increased pentane and carbon disulfide in the breath of patients with schizophrenia*. J Clin Pathol, 1993. **46**(9): p. 861-4.
72. Ulanowska, A., et al., *Determination of volatile organic compounds in human breath for Helicobacter pylori detection by SPME-GC/MS*. Biomed Chromatogr, 2011. **25**(3): p. 391-7.

73. Moretti, M., et al., *Increased breath markers of oxidative stress in normal pregnancy and in preeclampsia*. Am J Obstet Gynecol, 2004. **190**(5): p. 1184-90.
74. Wang, D.K. and C.C. Austin, *Determination of complex mixtures of volatile organic compounds in ambient air: an overview*. Anal Bioanal Chem, 2006. **386**(4): p. 1089-98.
75. Bundesministerium für Justiz und Verbraucherschutz. *Verordnung zur Durchführung des Bundes-Immissionsschutzgesetzes (Verordnung zur Begrenzung der Emissionen flüchtiger organischer Verbindungen bei der Verwendung organischer Lösemittel in bestimmten Anlagen) (31. BImSchV), § 2 Begriffsbestimmungen*. Available from: http://www.gesetze-im-internet.de/bimschv_31/. [Zugriff am 23.02.2016]
76. Cicolella, A., *Les composés organiques volatils (COV): definition, classification et propriétés*. Rev Mal Respir, 2009. **25**(2): p. 155-63.
77. Lechner, M. and F. Rieder, *Mass spectrometric profiling of low-molecular-weight volatile compounds--diagnostic potential and latest applications*. Curr Med Chem, 2007. **14**(9): p. 987-95.
78. Lippert, H., *Lehrbuch Anatomie*. 5. Auflage 2000, Urban & Fischer: München.
79. Lord, H., Y. Yu, and J. Pawliszyn, *Breath analysis and monitoring by membrane extraction with sorbent interface*. Anal Chem, 2002. **74**(21): p. 5650-7.
80. Mukhopadhyay, R., *Dont't waste your breath. Researchers are developing breath tests for diagnosing diseases, but how well do they work?* Anal Chem, 2004. **76**(15): p. 273A-276A.
81. Prazeller, P., et al., *Quantification of passive smoking using proton-transfer-reaction mass spectrometry*. Int J Mass Spectrom, 1998. **178**(3): p. L1-L4.
82. Libardoni, M., et al., *Analysis of human breath samples with a multi-bed sorption trap and comprehensive two-dimensional gas chromatography (GCxGC)*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2006. **842**(1): p. 13-21.
83. Phillips, M., *Breath tests in medicine*. Sci Am, 1992. **267**(1): p. 74-9.
84. Prado, C., P. Marin, and J.F. Periago, *Application of solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry to the determination of volatile organic compounds in end-exhaled breath samples*. J Chromatogr A, 2003. **1011**(1-2): p. 125-34.
85. Schubert, J.K., et al., *CO2-controlled sampling of alveolar gas in mechanically ventilated patients*. J Appl Physiol, 2001. **90**(2): p. 486-92.
86. Schubert, J.K. and K. Geiger, *Bedeutung und Perspektiven der Atemgasanalyse*. Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther, 1999. **34**(7): p. 391-5.
87. Amorim, L. and Z. de L Cardeal, *Breath air analysis and its use as a biomarker in biological monitoring of occupational and environmental exposure to chemical agents*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2007. **853**(1-2): p. 1-9.
88. Amann, A., P. Spanel, and D. Smith, *Breath analysis: the approach towards clinical applications*. Mini Rev Med Chem, 2007. **7**(2): p. 115-29.
89. Smith, D. and P. Spanel, *The challenge of breath analysis for clinical diagnosis and therapeutic monitoring*. Analyst, 2007. **132**(5): p. 390-6.
90. Dolch, M., et al., *Molecular breath-gas analysis by online mass spectroemtry in mechanically ventliated patients: a new software-based method of CO2-controlled alveolar gas monitoring*. J Breath Res, 2008. **2**(3): p. 037010.
91. Cao, W. and D. Yixiang, *Current status of methods and techniques for breath analysis*. Crit Rev Anal Chem, 2007. **37**(1): p. 3-13.
92. Schubert, J.K., et al., *Breath analysis in critically ill patients: potentials and linitations*. Expert Rev Mol Diagn, 2004. **4**(5): p. 619-29.
93. Miekisch, W., J.K. Schubert, and G.F. Noeldge-Schomburg, *Diagnostic potential of breath analysis--focus on volatile organic compounds*. Clin Chim Acta, 2004. **347**(1-2): p. 25-39.
94. Cao, W. and Y. Duan, *Breath analysis: potential for clinical diagnosis and exposure assessment*. Clin Chem, 2006. **52**(5): p. 800-11.

95. Phillips, M., et al., *Variation in volatile organic compounds in the breath of normal humans*. J Chromatogr B Biomed Sci Appl, 1999. **729**(1-2): p. 75-88.
96. de Lacy Costello, B., et al., *A review of the volatiles from the healthy human body*. J Breath Res, 2014. **8**(1): p. 014001.
97. Amann, A., et al., *Applications of breath gas analysis in medicine*. Int J Mass Spectrom, 2004. **239**(2-3): p. 227-33.
98. Buszewski, B., et al., *Human exhaled air analytics: biomarkers of diseases*. Biomed Chromatogr, 2007. **21**(6): p. 553-66.
99. Fenske, J.D. and S.E. Paulson, *Human breath emissions of VOCs*. J Air Waste Manag Assoc, 1999. **49**(5): p. 594-8.
100. Kalapos, M.P., *On the mammalian acetone metabolism: from chemistry to clinical implications*. Biochim Biophys Acta, 2003. **1621**(2): p. 122-39.
101. Budzikiewicz, H. and M. Schäfer, *Massenspektrometrie*. 5. Auflage 2005, Weinheim: WILEY-VCH.
102. Statheropoulos, M., A. Agapiou, and A. Georgiadou, *Analysis of expired air of fasting male monks at Mount Athos*. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2006. **832**(2): p. 274-9.
103. Smith, D., P. Spanel, and S. Davies, *Trace gases in breath of healthy volunteers when fasting and after a protein-calorie meal: a preliminary study*. J Appl Physiol (1985), 1999. **87**(5): p. 1584-8.
104. Pabst, F., et al., *Monitoring of oxidative and metabolic stress during cardiac surgery by means of breath biomarkers: an observational study*. J Cardiothorac Surg, 2007. **2**: p. 37.
105. King, J., et al., *Measurement of endogenous acetone and isoprene in exhaled breath during sleep*. Physiol Meas, 2012. **33**(3): p. 413-28.
106. Jordan, A., et al., *"On line" Spurengasanalyse im ppt- Bereich und ihre Anwendungen auf Gebieten der Medizin, Lebensmittelforschung und Luftqualität*. Ber. nat.-med. Verein Innsbruck, 1997. **84**: p. 1-17.
107. Arendacka, B., et al., *Variability issues in determining the concentration of isoprene in human breath by PTR-MS*. J Breath Res, 2008. **2**(3): p. 037007.
108. Smith, D., et al., *Isoprene levels in the exhaled breath of 200 healthy pupils within the age range 7-18 years studied using SIFT-MS*. J Breath Res, 2010. **4**(1): p. 017101.
109. Salerno-Kennedy, R. and K.D. Cashmann, *Potential applications of breath isoprene as biomarker in modern medicine: a concise overview*. Wien Klin Wochenschr, 2005. **117**(5-6): p. 180-6.
110. Karl, T., et al., *Human breath isoprene and its relation to blood cholesterol levels: new measurements and modeling*. J Appl Physiol (1985), 2001. **91**(2): p. 762-70.
111. Kushch, I., et al., *Breath isoprene--aspects of normal physiology related to age, gender, cholesterol profile as determined in a proton transfer reaction mass spectrometry study*. Clin Chem Lab Med, 2008. **46**(7): p. 1011-8.
112. Miekisch, W., et al., *Analysis of volatile disease marker in blood*. Clin Chem, 2001. **47**(6): p. 1053-60.
113. King, J., et al., *Dynamic profiles of volatile organic compounds in exhaled breath as determined by a coupled PTR-MS/GC-MS study*. Physiol Meas, 2010. **31**(9): p. 1169-84.
114. Hibbard, T. and A.J. Killard, *Breath ammonia levels in a normal human population study as determined by photoacoustic laser spectroscopy*. J Breath Res, 2011. **5**(3): p. 037101.
115. Spanel, P., S. Davies, and J.P. Smith, *Quantification of ammonia in human breath by selected ion flow tube analytical method using H₃O⁺ and O₂⁺ precursor ions*. Rapid Commun Mass Spectrometry, 1998. **12**(12): p. 763-6.
116. Kearney, D.J., T. Hubbard, and D. Putnam, *Breath ammonia measurement in Helicobacter pylori infection*. Dig Dis Sci, 2002. **47**(11): p. 2523-30.
117. Endre, Z.H., et al., *Breath ammonia and trimethylamine allow real-time monitoring of haemodialysis efficacy*. Physiol Meas, 2011. **32**(1): p. 115-30.

118. Kharitonov, S. and P.J. Barnes, *Biomarkers of some pulmonary diseases in exhaled breath*. Biomarkers, 2002. **7**(1): p. 1-32.
119. Turner, C., P. Spanel, and D. Smith, *An longitudinal study of ethanol and acetaldehyde in the exhaled breath of healthy volunteers using selected-ion flow-tube mass spectrometry*. Rapid Comm Mass Spectrom, 2006. **20**(1): p. 61-8.
120. Cope, K.A., et al., *Effects of ventilation on the collection of exhaled breath in humans*. J Appl Physiol (1985), 2004. **96**(4): p. 1371-9.
121. Cope, K.A., T.H. Risby, and A.M. Diehl, *Increased gastrointestinal ethanol production in obese mice: implications for fatty liver disease pathogenesis*. Gastroenterology, 2000. **119**(5): p. 1340-7.
122. Nair, S., et al., *Obesity and female gender increase breath ethanol concentration: potential implications for the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis*. Am J Gastroenterol, 2001. **96**(4): p. 1200-4.
123. Jones, A.W., *Measuring and reporting the concentration of acetaldehyde in human breath*. Alcohol Alcohol, 1995. **30**(3): p. 271-85.
124. Kamat, P.C., et al., *Measurement of acetaldehyde in exhaled breath using a laser absorption spectrometer*. Appl Opt, 2007. **46**(19): p. 3969-75.
125. Freund, G. and P. O'Hollaren, *Acetaldehyde concentrations in alveolar air following a standard dose of ethanol in man*. J Lipid Res, 1965. **6**(4): p. 471-7.
126. Bos, L.D., et al., *Exhaled breath metabolomics as a noninvasive diagnostic tool for acute respiratory distress syndrome*. Eur Respir J, 2014. **44**(1): p. 188-97.
127. Smith, D., et al., *Quantification of acetaldehyde released by lung cancer cells in vitro using selected ion flow tube mass spectrometry*. Rapid Commun Mass Spectrom, 2003. **17**(8): p. 845-50.
128. Miekisch, W. and J. Schubert, *From highly sophisticated analytical techniques to life-saving diagnostics: technical developments in breath analysis*. Trends Analyt Chem, 2006. **25**(7): p. 665-73.
129. Libardoni, M., *Analysis of human breath samples with a multi-bed sorption trap and comprehensive two-dimensional gas-chromatography (GCxGC)* J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2006. **842**(1): p. 13-21.
130. Deutsches Institut für Luft- und Raumfahrt. Available from: http://www.dlr.de/me/desktopdefault.aspx/tabid-2011/2949_read-4525/. [Zugriff am 27.07.2016]
131. Milonig, G., et al., *Non-invasive diagnosis of liver diseases by breath analysis using an optimized ion-molecule reaction-mass spectrometer approach: a pilot study*. Biomarkers, 2010. **15**(4): p. 297-306.
132. Stone, B.G., et al., *Effect of regulating cholesterol biosynthesis on breath isoprene excretion in men*. Lipids, 1993. **28**(8): p. 705-8.
133. Lehmann, W., *Massenspektrometrie in der Biochemie*. 1996, Heidelberg: Spektrum, Akad Verlag.
134. Hornuss, C., et al., *Real-time monitoring of propofol in expired air in humans undergoing total intravenous anesthesia*. Anesthesiology, 2007. **106**(4): p. 665-74.
135. Organisch Chemisches Institut der Universität Münster. Available from: <https://www.uni-muenster.de/Chemie.oc/service/mass/Methoden/Quadrupol/quadrupol.html>. [Zugriff am 23.12.2016]
136. Vogeser, M., *Anwendung der HPLC- Tandem- Massenspektrometrie in der klinischen Chemie*. J Lab Med, 2004. **28**(3): p. 195-104.
137. Chatfield, M. and A. Mander, *The Skillings-Mack test (friedman test when there are missing data)*. Stata J, 2009. **9**(2): p. 299-305.
138. R Core Team, *R: A language and environment for statistical computing*. 2016, R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria.

139. Statistisches Bundesamt, *Statistisches Jahrbuch 2015*. 2015, Wiesbaden.
140. Anonymous, *Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults: executive summary*. Expert Panel on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight in Adults. Am J Clin Nutr, 1998. **68**(4): p. 899-917.
141. Anonymous, *New Reference Values for Energy Intake*. Ann Nutr Metab, 2015. **66**(4): p. 219-223.
142. Wolfram, G., et al., *Evidence-Based Guideline of the German Nutrition Society: Fat Intake and Prevention of Selected Nutrition-Related Diseases*. Ann Nutr Metab, 2015. **67**(3): p. 141-204.
143. Deutsche Gesellschaft für Ernährungsmedizin. Available from: <https://www.dge.de/wissenschaft/referenzwerte/protein/>. [Zugriff am 22.08.2016]
144. Boshier, P., et al., *Variation in the levels of volatile trace gases within three hospital environments: implications for clinical breath testing*. J Breath Res, 2010. **4**(3): p. 31001.
145. Turner, C., P. Spanel, and D. Smith, *A longitudinal study of ethanol and acetaldehyde in the breath of healthy volunteers using selected-ion flow-tube mass spectrometry*. Rapid Commun Mass Spectrom, 2005. **20**(1): p. 61-8.
146. Turner, C., et al., *An exploratory comparative study of volatile compounds in exhaled breath and emitted by skin using selected ion flow tube mass spectrometry*. Rapid Commun Mass Spectrom, 2008. **22**(4): p. 526-32.
147. Hansel, A., et al., *Proton transfer reaction mass spectrometry: on-line trace gas analysis at the ppb level*. Int J Mass Spectrom Ion Processes, 1995. **149/150**: p. 609-19.
148. Cailleux, A. and P. Allain, *Isoprene and sleep*. Life Sci, 1989. **44**(24): p. 1877-80.
149. Hornuss, C., et al., *Breath isoprene concentrations in persons undergoing general anesthesia and in healthy volunteers*. J Breath Res, 2012. **6**(4): p. 046004.
150. Diskin, A.M., P. Spanel, and D. Smith, *Time variation of ammonia, acetone, isoprene and ethanol in breath: a quantitative SIFT-MS study over 30 days*. Physiol Meas, 2003. **24**(1): p. 107- 19.
151. Spanel, P., S. Davies, and D. Smith, *Quantification of breath isoprene using the selected ion flow tube mass spectrometric analytical method*. Rapid Commun Mass Spectrom, 1999. **13**(17): p. 1733-8.
152. Turner, C., P. Spanel, and D. Smith, *A longitudinal study of breath isoprene in healthy volunteers using selected ion flow tube mass spectrometry (SIFT-MS)*. Physiol Meas, 2006. **27**(1): p. 13-22.
153. DeMaster, E.G. and H.T. Nagasawa, *Isoprene, an endogenous constituent of human alveolar air with a diurnal pattern of excretion*. Life Sci, 1978. **22**(1): p. 91-7.
154. Spanel, P., K. Dryahina, and D. Smith, *The concentration distributions of some metabolites in the exhaled breath of young adults*. J Breath Res, 2007. **1**(2): p. 026001.
155. Galassetti, P.R., et al., *Breath ethanol and acetone as indicators of serum glucose levels: an initial report*. Diabetes Technol Ther, 2005. **7**(1): p. 115-23.
156. Moser, B., et al., *Mass spectrometric profile of exhaled breath--field study by PTR-MS*. Resp Physiol Neurobiol, 2005. **145**(2-3): p. 295-300.
157. Smith, D., T. Wang, and P. Spanel, *On-line, simultaneous quantification of ethanol, some metabolites and water vapour in breath following the ingestion of alcohol*. Physiol Meas, 2002. **23**(3): p. 477-89.
158. Spanel, P., K. Dryahina, and D. Smith, *A quantitative study of the influence of inhaled compounds on their concentrations in exhaled breath*. J Breath Res, 2013. **7**(1): p. 017106.
159. Schwarz, K., et al., *Breath acetone-aspects of normal physiology related to age and gender as determined in a PTR-MS study*. J Breath Res, 2009. **3**(2): p. 027003.

160. Turner, C., P. Spanel, and D. Smith, *A longitudinal study of ammonia, acetone and propanol in the exhaled breath of 30 subjects using selected ion flow tube mass spectrometry, SIFT-MS*. *Physiol Meas*, 2006. **27**(3): p. 321-37.
161. Risby, T.H., *Critical issues for breath analysis*. *J Breath Res*, 2008. **2**(3): p. 030302.
162. Phillips, M., J. Greenberg, and J. Awad, *Metabolic and environmental origins of volatile organic compounds in breath*. *J Clin Pathol*, 1994. **47**(11): p. 1052-3.
163. Risby, T.H. and S.S. Sehnert, *Clinical application of breath biomarkers of oxidative stress status*. *Free Radic Biol Med*, 1999. **27**(11-12): p. 1182-92.
164. Schubert, J., et al., *In vivo evaluation of a new method for chemical analysis of volatile components in the respiratory gas of mechanically ventilated patients*. *Technol Health Care*, 1999. **7**(1): p. 29-37.
165. Maurer, F., et al., *Wash-out of ambient air contaminations for breath measurements*. *J Breath Res*, 2014. **8**(2): p. 027107.
166. Phillips, M., *Method for the collection and assay of volatile organic compounds in breath*. *Anal Biochem*, 1997. **247**(2): p. 272-8.
167. Schubert, J.K., et al., *Impact of inspired substance concentrations on the results of breath analysis in mechanically ventilated patients*. *Biomarkers*, 2005. **10**(2-3): p. 138-52.
168. Pleil, J., M.A. Stiegel, and T.H. Risby, *Clinical breath analysis: discriminating between human endogenous compounds and exogenous (environmental) chemical confunders*. *J Breath Res*, 2013. **7**(1): p. 017107.
169. Boots, A.W., et al., *The versatile use of exhaled volatile organic compounds in human health and disease*. *J Breath Res*, 2012. **6**(2): p. 027108.
170. Ligor, T., et al., *The analysis of healthy volunteers' exhaled breath by the use of solid-phase microextraction and GC-MS*. *J Breath Res*, 2008. **2**(4): p. 046006.
171. Bennet, L., et al., *A chemometric study on human breath mass spectra for biomarker identification in cystic fibrosis*. *J Breath res*, 2009. **3**(4): p. 046007.
172. Miekisch, W., J. Herbig, and J.K. Schubert, *Data interpretation in breath biomarker research: pitfalls and directions*. *J Breath Res*, 2012. **6**(3): p. 036007.
173. Kang, S. and C.L. Paul Thomas, *How long may a breath sample be stored for at -80 °C? A study of the stability of volatile organic compounds trapped onto a mixed Tenax:Carbograph trap adsorbent bed from exhaled breath*. *J Breath Res*, 2016. **10**(2): p. 026011.

Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Marc Schünemann, erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema:

„Die flüchtigen organischen Verbindungen Aceton, Isopren, Ammoniak, Ethanol und Acetaldehyd in der menschlichen Ausatemluft

Eine massenspektrometrische Untersuchung im Rahmen einer fünftägigen Isolation“ selbstständig verfasst habe und dabei keine anderen Hilfsmittel, als angegeben verwendet habe. Alle Erkenntnisse, welche aus der Literatur ganz oder teilweise übernommen sind, werden als solche gekennzeichnet und ihr Ursprung unter Angabe der Quelle bezeichnet.

Auch erkläre ich an dieser Stelle, dass diese hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder ähnlicher Form bei anderen Stellen zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde“

München, den 05. März 2017

Marc Schünemann

Danksagung

Allen Personen gegenüber, welche mich bei der Fertigstellung dieser Arbeit über diesen langen Zeitraum unterstützten, möchte ich auf diesem Wege meinen tiefsten Dank aussprechen.

Ich danke Herrn Professor Dr. med. Alexander Choukèr für die Überlassung dieses Themas sowie ganz besonders Herrn Dr. Michael Dolch für die lange, intensive Unterstützung, Betreuung und Hilfe auf dem Weg zur Fertigstellung dieser Arbeit.

Ich möchte auch den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Instituts für Luft- und Raumfahrtmedizin des Deutschen Zentrums für Luft- und Raumfahrt (DLR) unter Leitung von Herrn Prof. Rupert Gerzer, welche die Durchführung der Untersuchung vor Ort ermöglichten und leisteten, meinen besonderen Dank zum Ausdruck bringen.

Vor allem Herrn Bernhard Ulm, welcher mir bei der statistischen Analyse der erhobenen Daten mit Rat und Tat zur Seite stand, möchte ich an dieser Stelle danken.

Vor allem aber meiner Frau und meinen Töchtern, welche durch ihre unerschütterliche Unterstützung über die gesamte Zeit mir überhaupt ermöglicht haben, diese Arbeit fertig zu stellen, gilt meine tiefste Dankbarkeit.